

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

ДАНИЛЕНКО СВІТЛАНА ГРИГОРІВНА

УДК 636.5.033: 636.08.003:579.676:579.262

**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ РОЗРОБКИ БІОТЕХНОЛОГІЇ
ІННОВАЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ СПОЖИВЧИХ
ЯКОСТЕЙ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ**

03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора технічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Інституті продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України.

Науковий консультант: доктор технічних наук **Кігель Наталя Федорівна** – Інститут продовольчих ресурсів НААН України, головний науковий співробітник відділу біотехнології.

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор **Баль-Прилипко Лариса Вацлавівна** – Національний університет біоресурсів і природокористування України, декан факультету харчових технологій та управління якістю продукції АПК;

доктор технічних наук, доцент **Тодосійчук Тетяна Сергіївна** – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, завідувач кафедри промислової біотехнології;

доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН України **Ничик Сергій Анатолійович** – Інституту ветеринарної медицини НААН України, директор


Захист відбудеться 7 грудня 2018 року о 10-30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.002.28 при Національному технічному університеті України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України (03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37, корп. 4, ауд. 258).

З дисертацією можна ознайомитися у Науково-технічній бібліотеці ім. Г.І. Денисенка Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України (03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37).

Відгуки на автореферат просимо надсилати за адресою: 03056, Україна, м. Київ, пр. Перемоги, 37, корп. 1, кімната 158, відділ вченого секретаря КПП імені Ігоря Сікорського.

Автореферат розіслано «6» листопада 2018 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради Д 26.002.28, д.б.н., доц.

 О.Ю. Галкін

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми.

Наукова концепція розвитку біотехнологій харчових продуктів, яка охоплює, зокрема, виробництво м'яса та м'ясних продуктів відповідно до потреб та вподобань споживачів, а також до вимог світового ринку.

Реалізація цієї концепції вимагає розробки принципово нових комплексних технологій з належним урахуванням результатів досліджень залежності якісних показників сировини від раціону годівлі забійних тварин та технології її переробки.

В умовах інтенсифікації сільськогосподарського виробництва та його поглибленої спеціалізації збільшення виробництва м'ясної продукції має бути забезпечено за рахунок підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин, що неможливо без організації їх повноцінного збалансованого харчування. Тому виникає необхідність використовувати в їх раціонах біологічно активні препарати і кормові добавки нехімічного походження, що, з одного боку, дозволяють підвищити резистентність організму тварин, поліпшити ефективність використання кормів, збільшити швидкість росту, істотно підвищити збереження молодняку і дають можливість отримати продукцію з підвищеними споживчими властивостями, з іншого - належить до матеріалів біологічного походження, що сприяють належній екологізації виробництва.

Численними дослідженнями встановлено, що використання в раціонах тварин пробіотиків кормового призначення забезпечує імунomodulatory та протиінфекційну дію, сприяє регулюванню стану кишкового мікробіоценозу, оптимізації процесу травлення і функції кишківника (Кігель Н., 1999; Тарадій Г.К., 2001; Пентилюк С.І., 2012; Юдина Н.А., 2015; Бондаренко В.М., 2007; Ghafoor A., 2005; Кочер Э., 2006; Вернер А., 2008; Roberfroid M.B., 1998; Бетин А., 2016; Субботин В.В., 2008; Фисинин В.И., 2017; Юлевич О.І., 2017).

Показано, що пробіотики необхідно розробляти з урахуванням специфіки систем травлення та способів годівлі кожного виду сільськогосподарських тварин, беручи за основу мікроорганізми, вилучені від здорових тварин.

Важливою задачею виробництва продуктів харчування в умовах ринкової конкуренції є отримання готового продукту бажаної якості, гарантовано безпечного для споживачів. Виробництво сирокочених та сиров'ялених м'ясних продуктів передбачає ферментативне дозрівання, яке є одним із важливих напрямків, заснованих на ефективних методах біотехнології.

Перехід від спонтанної ферментації до спрямованого використання мікроорганізмів можна датувати 1940 роком, коли у виробництві сирокочених ковбас уперше було застосовано чисті культури двох видів лактобацил *L. plantarum* і *L. fermentum*.

В Україні ці біотехнології препаратів для ферментування м'ясної сировини не мають належного поширення і переважно використовуються закордонні препарати мікроорганізмів, які мають ряд недоліків: не адаптовані

до вітчизняної сировини і, як наслідок, не забезпечують відтворення традиційних органолептичних показників готової продукції.

У нашій країні, фактично, відсутні промислові штами, здатні нормалізувати мікробіоту кишківника тварин та ферментувати м'ясну сировину. Тому добір культур мікроорганізмів і створення препаратів на базі автохтонної мікробіоти вітчизняних сільськогосподарських тварин для підвищення продуктивності тваринництва, якості м'ясної сировини є актуальним та економічно обґрунтованим завданням.

У зв'язку з вищевикладеним актуальними є дослідження, спрямовані на пошук мікроорганізмів, придатних для розробки нових ефективних біотехнологій виробництва інноваційних препаратів-пробіотиків для тваринництва і птахівництва, а також препаратів для переробки отриманої м'ясної сировини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана відповідно до напряму науково-дослідних робіт Інституту продовольчих ресурсів НААН (ІПР НААН) в межах 4 бюджетних тем відділу біотехнології “Розробити нові бактеріальні препарати на основі молочнокислих бактерій для інтенсифікації процесу визрівання ферментованих м'ясних продуктів з характерними смако-ароматичними властивостями”, номер державної реєстрації 0101U002286 (2001-2005 рр.); “Розробити ефективні бактеріальні препарати для виробництва ферментованих м'ясних продуктів”, номер державної реєстрації 0101U002263 (2005-2010 рр.); “Провести селекцію мікрофлори, здатної до розвитку у гіпертонічних розчинах та сумішах для посолу м'яса, дослідити закономірності її функціонування”, номер державної реєстрації 0111U001293 (2011-2015 рр.); “Розробити наукові засади селекції пробіотичних штамів мікроорганізмів для підвищення біологічної цінності харчових продуктів”, номер державної реєстрації 0112U005064 (2011-2013 рр.).

Мета та задачі дослідження. Метою роботи є обґрунтування біотехнологічних процесів отримання нових функціональних добавок на основі пробіотичних мікроорганізмів, їх практичного застосування у відгодівлі сільськогосподарських тварин та створення мультикомпонентних бактеріальних препаратів на основі штамів-бактерій різних таксономічних груп для ферментування м'ясної сировини.

Основними завданнями роботи визначено:

- удосконалити методику вилучення лакто- та біфідобактерій за критеріями оцінки пробіотичних мікроорганізмів, вивчити їх біологічні властивості, встановити умови зберігання та підтримування штамів;
- провести пошук та селекцію штамів молочнокислих бактерій та мікроорганізмів інших таксономічних груп із застосуванням сучасних підходів і методів, виходячи з критеріїв доцільності використання для виробництва ферментованих м'ясних продуктів;
- розробити біотехнології бактеріальних препаратів для ферментування м'ясних продуктів та функціональних добавок для годівлі сільськогосподарських тварин і птиці;

- перевірити функціональну ефективність новостворених функціональних пробіотичних добавок у лабораторних і клінічних умовах;
- визначити особливості впливу розроблених функціональних добавок на фізіологічні показники крові, кількісний та якісний склад мікробіоти кишківника, на живу масу та збереженість поголів'я тварин;
- дослідити вплив досліджуваних кормових функціональних добавок на якість м'ясної сировини;
- дослідити комплексний вплив інноваційних бактеріальних препаратів на мікробіологічні, біохімічні, фізико-хімічні та органолептичні властивості ферментованих м'ясних продуктів;
- розрахувати економічну ефективність застосування функціональних добавок в годівлі великої рогатої худоби, свиней та птиці;
- розробити нормативні документи щодо виробництва отриманих інноваційних бактеріальних препаратів, функціональних добавок та впровадити новостворені біотехнології у виробництво.

Об'єкт дослідження – біотехнологічні підходи до створення інноваційних препаратів на основі штамів молочнокислих і біфідобактерій, мікрококів і стафілококів, науково-методичне обґрунтування параметрів росту цих препаратів, поживні та захисні середовища, м'ясна сировина та ферментовані м'ясні продукти.

Предмет дослідження – біотехнології інноваційних препаратів, мікробіологічні, фізіолого-біохімічні властивості штамів молочнокислих та біфідобактерій, стафілококів і мікрококів; біологічні і технологічні характеристики відібраних штамів та їх композицій, ефективність застосування функціональних добавок у відгодівлі молодняку ВРХ, поросят та птиці.

Методи дослідження. Загальні біотехнологічні методи, мікробіологічні, фізико-хімічні, молекулярно-генетичні методи ідентифікації мікроорганізмів, біохімічні та методи біометричної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведено пріоритетні теоретичні дослідження та обґрунтовано нові науково-практичні основи розробки біотехнологій інноваційних препаратів, для відгодівлі ВРХ, свиней і птиці та ферментації м'ясної сировини з використанням мікроорганізмів різних таксономічних груп.

Досліджено біотехнологічні та пробіотичні властивості вилучених мікроорганізмів, які визначають розвиток у шлунково-кишковому тракті тварин та функціонування у м'ясній сировині.

Вперше на основі регіональних біологічно активних штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із ШКТ здорових тварин, розроблено функціональні добавки для їх відгодівлі.

Сформовано колекцію промислово-цінних штамів молочнокислих та біфідобактерій для використання у виробництві пробіотиків для сільськогосподарських тварин. Отримано нові знання щодо пробіотичного потенціалу, закономірностей їх росту, регуляції метаболізму, що дало

можливість обґрунтувати сукупність біотехнологічних рішень з відгодівлі тварин.

Розроблено основи промислової біотехнології нових бактеріальних композицій «ЛРР» та «КПК» для ферментації м'ясної сировини, зокрема встановлено співвідношення між компонентами композицій, раціональні умови нагромадження біомаси. Доведено необхідність постадійного внесення інокуляту під час нарощування біомаси, встановлено умови її консервування та зберігання.

Отримали подальший розвиток дані щодо:

- складу мікробіоти вітчизняних сирокочених та сиров'ялених виробів з різних видів м'яса, виготовлених без застосування заквашувальних культур, для якої є характерним домінування природного комплексу молочнокислих бактерій та каталазонегативних коків, які визначають перебіг ферментування м'ясної сировини.

- наукового обґрунтування критеріїв селекції мікробіоти, яка забезпечують біохімічні та фізико-хімічні перетворення компонентів м'ясної сировини, специфічну смако-ароматичну гаму і високі санітарні показники готових ферментованих м'ясних продуктів;

Практичне значення результатів дисертаційної роботи полягає:

- у розробленні біотехнологій виробництва бактеріальних препаратів прямого внесення “ЛРР” та “КПК” для ферментації м'ясної сировини (ТУ У 15.5-00419880-101-2010 «Препарати бактеріальні для виробництва ферментованих м'ясних продуктів») та пробіотиків для тварин (ТУ У 10.9-00419880-136:2017 «Пробіотики «ТІММ» для сільськогосподарських тварин. Технічні умови»);

- у розробленні автором нормативних документів (НД) щодо мікробіологічного контролювання: ДСТУ 8381:2015 «М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень»; ДСТУ 8720:2017 «Вироби ковбасні та продукти з м'яса. Методи визначення мікробного забруднення»; ДСТУ 7357:2013 «Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного аналізування»; ДСТУ 7355:2013 «Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій»;

- у розширенні колекції промислових мікроорганізмів ІПР НААН, що відповідають вимогам до пробіотиків, а саме по 1 штаму *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* та по 2 штами *L. rhamnosus* і *L. paracasei ssp. paracasei* та поповнено 15 штамами колекцію вітчизняних промислових штамів коагулазонегативних коків і молочнокислих бактерій для виробництва ферментованих м'ясних продуктів. Всі штами колекції задепоновано у Національній колекції промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України (ІМВ НАНУ). Три штами захищено патентами України.

За результатами клінічної апробації розроблено та рекомендовано до впровадження у ветеринарну практику пробіотик ТІММ-С.

Нововиділеними 35 штамми роду *Lactobacillus*, *Micrococcus* та *Staphylococcus* поповнено колекцію промислово цінних штамів ІПР НААН, що використовують у виробництві бактеріальних препаратів для ферментування м'ясної сировини. Проведено експериментальну апробацію у промислових умовах бактеріального препарату «ЛРР» у виробництві варено-копчених ковбас за умов посолу на ВКФ «Укрпромпостач-95» ЛТД.

Новизна та оригінальність бактеріальних композицій, технологій бактеріальних препаратів та функціональних добавок, створених в процесі виконання роботи, захищена 7 патентами на винахід.

Виробництво бактеріальних препаратів та функціональних добавок впроваджено на Державному дослідному підприємстві ІПР НААН.

Функціональні добавки апробовано в промислових умовах господарств:

«БК-Пт» - НВП «УКРВАК», Київська обл., Броварський р-н, с. Княжичі;

«БК-П» - ФГ «Вітас іК», Полтавська обл., ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, Полтавська обл., та свиногомплексу «Мар'янівський» ТОВ «Черкаська м'ясна компанія», с. Мар'янівка, Лисянського р-ну Черкаської обл;

«БК –Т» - ФГ «Вітас іК», Полтавська обл.

Застосування отриманих інноваційних препаратів дає суттєвий соціально-економічний ефект завдяки опосередкованому оздоровленню людини за рахунок зменшення використання антибіотичних і хіміотерапевтичних препаратів у тваринництві і, як наслідок, обмеження впливу на організм людини шкідливих хімічних речовин, зокрема алергенів, забезпечує отримання екологічно чистої продукції.

Особистий внесок здобувача полягає в теоретичному аналізі проблеми, визначенні напрямку досліджень, організації виконання експериментальних досліджень, обробленні та узагальненні отриманих результатів, у науковому обґрунтуванні технологічного процесу виробництва бактеріальних препаратів та функціональних добавок. Автором особисто, або за безпосередньої участі, підготовлено до публікації статті та патенти на винаходи, розроблено нормативні документи.

Планування основних напрямків роботи та обговорення результатів проводилося з науковим консультантом – д.т.н. Кігель Н.Ф.

Окремі фрагменти досліджень виконано разом з к.т.н Наumenко О.В. (селекційна робота); к.б.н. Жуковою Я.Ф. (біохімічні дослідження), к.т.н. Войцехівською Л.І. (впровадження бактеріальних препаратів на м'ясопереробних підприємствах), Гардою С.В. (апробація функціональної добавки «БК-Пт»), к.в.н. Сапейком В.П. (антагоністична активність бактерій та впровадження функціональних добавок); к.б.н. Риженко Г.Ф. (токсичність функціональних добавок); д.в.н. Скибіцьким В.Г. та к.в.н. Козловською Г.В. (адгезивна та антагоністична активність бактерій, впровадження функціональних добавок). Всі співвиконавці робіт є співавторами відповідних публікацій. Автор висловлює подяку всім, хто допомагав у виконанні цієї дисертаційної роботи. Особисто автором описані результати досліджень,

проведено їх аналіз та обговорення. Спільно із науковим консультантом сформовано висновки.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на Всеукраїнській конференції з питань безпеки харчування (2010 р., м. Київ), Міжнародній науково-практичній інтернет – конференції «Механізми реалізації стратегії розвитку національної економіки» (2011 р., м. Тернопіль), IV Всеукраїнській науково-практичній конференції “Новітні тенденції у харчових технологіях та якість і безпечність продуктів” (2012 р., м. Львів), на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и инновации -2013» (2013, Білорусь, м. Горки), IX Міжнародній науково-практичній конференції «Наука в інформаційному просторі» (2013 р., м. Дніпропетровськ), на VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія ХХІ століття», присвяченій 200 річниці з дня народження Т. Г. Шевченка (2014 р., м. Київ), на III Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (2014, м. Київ), на ХМіжнародній науково-практичній конференції «Dny vědy – 2014» (2014, Прага), на IV Міжнародній науково-технічній конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та олієжирової галузей у контексті євроінтеграції» (2015 р., м. Київ), на III Міжнародній науково-практичній конференції «Продовольчі ресурси: проблеми і перспективи» (2016 р, м Київ).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано у 82 науковій праці, у тому числі 23 статей у наукових фахових виданнях (з них 11 статей у вітчизняних журналах, які представлено у міжнародних наукометричних базах даних, 4 статті у наукових виданнях інших країн), 7 патентів на винахід, 1 патентів на корисну модель, 18 статей у інших наукових виданнях, 1 методичні вказівки, 4 нормативні документи, 23 тез доповідей в збірниках конференцій.

Обсяг і структура роботи. Загальний обсяг дисертації становить 525 сторінки, зокрема основний зміст роботи викладено на 292 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація містить розширену анотацію (українською і англійською мовами), зміст, вступ, огляд літератури, розділ 2 «Матеріали і методи досліджень», експериментальні дослідження, викладені в розділах 3-10, висновки, список використаних джерел, додатки до дисертації. Робота включає 80 таблиць і 71 рисунок. Список використаної літератури налічує 474 джерел.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ.

У **першому розділі** – «Огляд літератури» – узагальнено дані щодо складу мікробіоти сільськогосподарських тварин, мікробіоти м'ясних продуктів; охарактеризовано біологічні та технологічні властивості, за якими здійснюють відбір культур, висвітлено основні біотехнологічні показники отримання бактеріального препарату, проаналізовано ефективність застосування заквашувальних культур упродовж процесу визрівання м'ясних продуктів,

надано характеристику бактеріальних препаратів, застосовуваних у промисловості.

У **другому розділі** – «Організація експериментальних досліджень» – висвітлено, виділення та відбір культур за рекомендаціями [Банникова Л.А., 1975; Герхард Ф., 1983]. Ідентифікацію мікроорганізмів проводили за комплексом фенотипових ознак відповідно до загальноприйнятих ключів [Хоулт Дж., 1997; Frenev et al., 1999], також застосовували комерційні системи API 20 A і API 50 CHL (BioMerieux, Франція). Тип взаємовідносин між бактеріями визначали модифікованим методом «лунок» [Король Ц.О., 2007]. Антибіотикорезистентність визначали диско-дифузійним методом. Визначення загальної кількості циклічних вільних амінокислот проводили методом Хулла, ациклічних – методом [Gomez M.G., 1998]; характеристику кількісного та якісного складу вільних амінокислот здійснювали на амінокислотному аналізаторі LC-2000 (Біотронік). Нітритредуквальну активність оцінювали за реакцією з сульфаніламідом та N-(1-нафтил)-етилендіамін-дігідрохлоридом [Антипова Л.В., 2001]. Активну кислотність (pH) вимірювали потенціометрично; активність води (a_w) – портативним приладом AquaLab серії 3 модель TE. Для визначення адгезивних властивостей бактерій *in vitro* застосовували модельну систему з еритроцитами з наступною реєстрацією процесу за допомогою світлового мікроскопу [Брилис В. И., 1989]. Характеристику кількісного складу летких жирних кислот проводили методом високоефективної газорідинної хроматографії на хроматографі Купол-55 [Рачев Р., 1975]; вміст загального протеїну – методом К'ельдаля [Журавская Н.К., 1985]. Підтвердження видової належності штамів до *L. acidophilus* проводили ПЛР-опосередкованим методом [Короткая Е.В., 2011].

Визначення зоотехнічних показників проводили за загальноприйнятими методами: м'ясні якості тварин - шляхом проведення контрольного забою [ВАСХНИЛ, 1987]; кількість еритроцитів і лейкоцитів в камері Горяєва; Гемоглобін - ціанідним методом з ацетонціангідридом [Кондрахін И.П., 1985]; Загальний білок - біуретовим методом [Грибан В.Г., 2001]; лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) встановлювали нефелометричним методом за [Дорофейчук В.Г., 1968]; бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) - фотокалориметричним методом за зміною оптичної густини м'ясопептонного бульйону при зростанні в ньому *E. coli* [Влізло В.В., 2011]; диференційний підрахунок лейкоцитів (лейкограму) проводили під мікроскопом на пофарбованих за Романовським-Гімзою мазках крові. Визначення мікробіологічних та органолептичних показників ферментованих м'ясних продуктів проведено відповідно до чинної нормативної документації.

Статистичну обробку даних проводили за методами варіаційної статистики з використанням пакетів комп'ютерної програми «Statistika 7.0». Повторність дослідів три-п'яти разова. Графічну обробку результатів здійснено за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2016.

У **третьому розділі** – «Аналіз мікробіоти сільськогосподарських тварин» – наведені результати з аналізування мікробіоти сільськогосподарських тварин.

Однією з важливих умов отримання ефективних мікроорганізмів є вилучення їх з біотопів організму - природного середовища мешкання, до якого вони мають повернутися у складі функціональних продуктів. Тому виділення штамів лакто- і біфідобактерій проводили із зразків фекалій (товстий кишечник) телят, поросят та птиці різного віку, що належали господарствам впродовж тривалого часу благополучним щодо шлунково-кишкових захворювань.

Оскільки відомо, що лакто- та біфідобактерії характеризуються високим пробіотичним потенціалом, дослідження було спрямовано на вилучення цих груп мікроорганізмів. З організму телят було вилучено 45 ізолятів лактобактерій і 23 - біфідобактерій; поросят - відповідно 49 і 14 ізолятів, та з біологічного матеріалу птиці 82 і 21 ізолят відповідно.

Ідентифікацію ізолятів було проведено за ключами, наведеними у визначнику Бергі. Ферментативні властивості штамів вивчали, використовуючи мікроб'ємну тест-систему API 50 CH та API 20 A. Для усунення наявних розбіжностей при ідентифікації лактобактерій традиційними методами, у тому числі зі застосуванням стандартизованих *Lactobacillus acidophilus*, нами було проведено ПЛР зі застосуванням пари олігонуклеотидних праймерів до гену LA14_RS09905.

Як видно на рис.1, у аліквотах 1, 2 присутній амплікон 223 бп, що свідчить про наявність 223 бп специфічного фрагменту ДНК гену LA14_RS09905 культури *L. acidophilus*. У аліквотах 3 – 5 амплікон 223 бп відсутній.

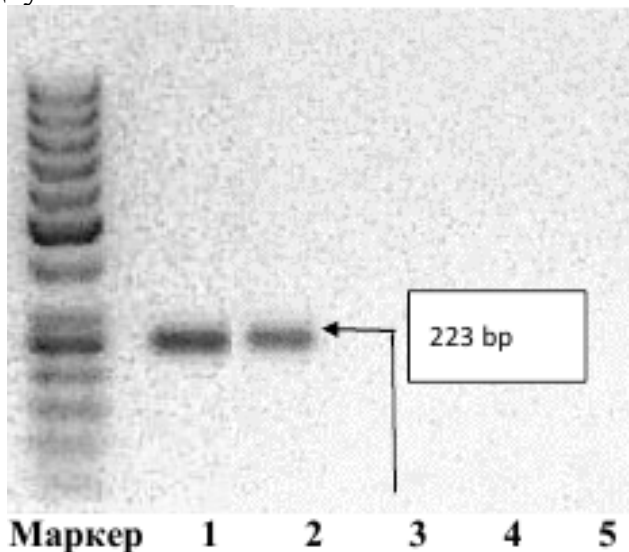


Рис. 1. Дієвість пари специфічних олігонуклеотидних праймерів по визначенню ДНК бактеріальних препаратів. (*L. acidophilus* – 1, Лактіале – 2, Симбіотик – 3, Біфідокомплекс – 4, 5 – деіонізована вода).

Результатом визначання культури *L.acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом ПЛР є ампліфікація фрагментів 223 бп специфічного фрагменту ДНК гену LA14_RS09905, що дозволяє визначити присутність ДНК цього виду лактобацил у заквасках, бактеріальних препаратах та ферментованих харчових продуктах.

Дослідження біологічних властивостей відібраних штамів мікроорганізмів. У досліді з визначення антагоністичної активності найефективніше пригнічувався розвиток гнилісних мікроорганізмів – протеїв і псевдомонад, найменше – *B. subtilis* і *S. aureus* 209 – зони пригнічення росту

для окремих представників видів *L. plantarum*, *L. fermentum* і *L. lactis* не перевищували 10-15 мм. Незважаючи на певні флуктуації в інтенсивності прояву антагонізму, вилучені штами біфідобактерій можна охарактеризувати як такі, що відповідають критеріям оцінювання пробіотичних штамів за цією ознакою.

Отримані закономірності є характерними і узгоджуються з літературними даними, які свідчать проте, що стійкість до дії жовчних кислот спостерігається переважно у бактерій, виділених із ШКТ ссавців, і може не проявлятися у штамів виділених із інших джерел. Це пояснюється тим, що наявність жовчних кислот у середовищі існування є природним для штамів МКБ і ББ – представників ШКТ ссавців [Коваленко Н.К., 2001; Захарова Ю.В., 2011].

Досліджені штами МКБ та біфідобактерій проявляють стійкість до низьких значень рН і жовчних солей, що сприяє їх виживанню у верхніх відділах ШКТ, зокрема шлунку і тонкому кишківнику.

Перевірка чутливості вилучених штамів біфідобактерій і лактобацил до 27 антибіотиків, що належать до 13 груп антимікробних речовин (пеніциліни, цефалоспорини, карбапеніми, аміноглікозиди, тетрацикліни, азаліди, лінкозаміни, поліміксини, фторхінолони тощо), показала, що переважна кількість штамів молочнокислих бактерій була вразливою до дії цефалоспоринів, тетрациклінів, азалідів, лінкозамінів, хлорамфеніколу, рифампіцину – зони затримки росту коливались від 20 до 30 мм. Окремі штами, навпаки, були стійкими до цих антибіотиків. Цікавим є факт, що біфідобактерії залучені до цих досліджень, характеризувалися вищою резистентністю до ширшого спектру антибіотиків, ніж МКБ. Загалом, будь якої чіткої закономірності встановити не вдалося, що свідчить про штамоспецифічність прояву цієї властивості.

Адгезивна активність серед мікроорганізмів проявилась по-різному і залежала від джерела вилучення еритроцитів (табл. 1). В таблиці 1 наведені розбіжності адгезивних властивостей штамів мікроорганізмів, виділених від телят, поросят та птиці. Так СПА лактобактерій виділених від телят, мали вищі показники до еритроцитів теляти, ніж до еритроцитів інших тварин. СПА лактобактерій, виділених від телят, до еритроцитів бика склав 3,23-4,85, а до еритроцитів птиці 0,54-1,39, що свідчить про високу адгезивність досліджуваних штамів. Така тенденція прослідковувалася для всієї мікробіоти.

Таблиця 1

Середній показник адгезивності (СПА) штамів, виділених від різних видів тварин

Назва мікроорганізму	Кількість штамів	Кількість еритроцитів, од.		
		Поросята	Птиця	Телята
<i>L. plantarum</i>	2	2,34-4,89	0,67-4,45	3,23-4,56
<i>L. paracasei</i>	3	3,05-4,33	3,87-4,66	3,22-4,85
<i>B. suis</i>	3	3,42 - 4,25	1,15-3,22	1,24-4,31
<i>B. infantis</i>	7	3,36-3,98	2,49-4,43	3,23-5,67
<i>B. pullorum</i>	2	0,54-2,11	4,56-5,17	0,94-1,65

Мікробіота кишківника тварин проявляє більш виражені адгезивні властивості до еритроцитів тієї тварини, з якої її було вилучено, ніж до еритроцитів людини, що у свою чергу, свідчить про пріоритет дослідження адгезивних властивостей, мікроорганізмів відповідно до еритроцитів тієї тварини, з якої її було вилучено.

Функціональні можливості окремих пробіотиків є унікальними, і, корисна дія, яка буде отримана при споживанні продуктів з певним пробіотичним штамом, не може переноситись на інші штами, навіть у межах того ж самого виду.

У четвертому розділі – «Розроблення біотехнологій функціональних добавок для сільськогосподарських тварин» – проведено визначання типу взаємовідносин між штамми лакто- та біфідобактерій. Для цього було відібрано 9 штамів роду *Lactobacillus* та 8 штамів роду *Bifidobacterium*. Зі вказаних штамів було створено 72 двокомпонентні комбінації, і упродовж спільного культивування лактобацил і біфідобактерій у середовищі МРС-5 за температури $(37\pm 2)^\circ\text{C}$, за приростом чисельності обох складників було визначено тип взаємовідносин.

Взаємне стимулювання МКБ і біфідобактерій спостерігали у 31 комбінаціях, а коменсалізм – у майже 22,2 % комбінацій. Встановлено стимулювання росту біфідобактерій лактобактеріями у 14,3 % комбінацій, а у 7,9 % комбінації – стимулювання росту лактобактерій біфідобактеріями. Взаємне пригнічення культур було зафіксоване у 3 комбінаціях. Активний антагонізм був майже у 17,5 % комбінацій. Лактобактерії пригнічували ріст біфідобактерій у 6 комбінаціях, у 5 комбінаціях встановлено пригнічування лактобактерій біфідобактеріями.

За результатами проведених досліджень було відібрано 18 двокомпонентних комбінацій культур лакто- та біфідобактерій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюють одна одну.

Було скомпоновано вісімнадцять трьох- та чотирьохштамових композицій зі співвідношенням штамів 1:1:1 та 1:1:1:1, зокрема, по 6 композицій для кожного виду тварин і птиці (рис. 2).

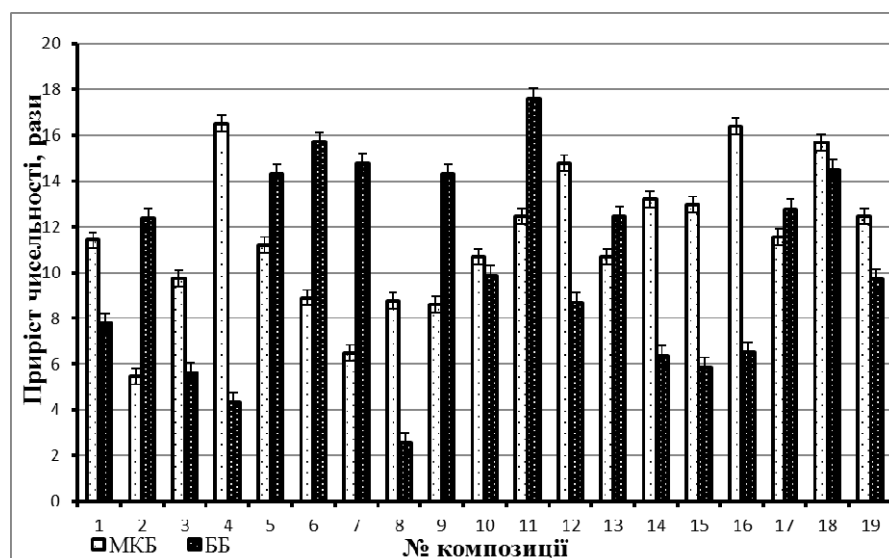


Рис. 2. Приріст чисельності мікроорганізмів у створених бактеріальних композицій упродовж 18 год.

У результаті проведених досліджень було відібрано 3 композиції, у яких зростала чисельність мікроорганізмів: МКБ – у 11,1–15,67 рази та ББ – у 14,3–17,6 рази. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, яке сприяло активному розвитку мікроорганізмів. Згадані композиції було взято до наступних досліджень.

Для відібраних композицій було досліджено п'ять варіантів поживних середовищ, які розрізнялися між собою за типом і концентрацією джерел карбону, преміксів та нітрогену.

Основою цих середовищ були такі складники як: сухе знежирене молоко, глюкоза, лактоза, кукурудзяний екстракт, премікс «ФІЗ» та «Три-соль», аскорбінова кислота та ацетат натрію. До основи у різних співвідношеннях вводили інші компоненти, а саме: цитрат натрію, сульфати магнію і марганцю, дріжджовий екстракт, солодове сусло та пептон. Як контроль (К) було обрано середовище для отримання бактеріального концентрату «БМК» [Єресько Г.О., 1998].

Оскільки відібрані штами є термофілами та істотно не розрізнялися за оптимальною температурою росту – $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$, температурні режими культивування не потребували додаткових досліджень.

Нарощування бактеріальної маси композицій проводили з періодичним розкисленням середовища упродовж 14 годин. Про ефективність застосування перелічених компонентів судили за кількістю молочнокислих та біфідобактерій (рис. 3).

Найменш придатним для нагромадження біомаси композиції К 1 було ПС I. Воно не забезпечувало оптимальних умов росту для біфідобактерій. При культивуванні композиції у П I рівень нагромадження біомаси культур був нижчим ніж контроль ($p < 0,05$). Максимальне нагромадження композиції К1 зафіксовано у ПС III. Подібні результати були отримані і для композиції К1. Для композиції К 2 найбільш придатним було середовище ПС IV. Композиція К 3 нагромаджувалася максимально у двох середовищах, а саме ПС III та ПС V ($p < 0,05$).

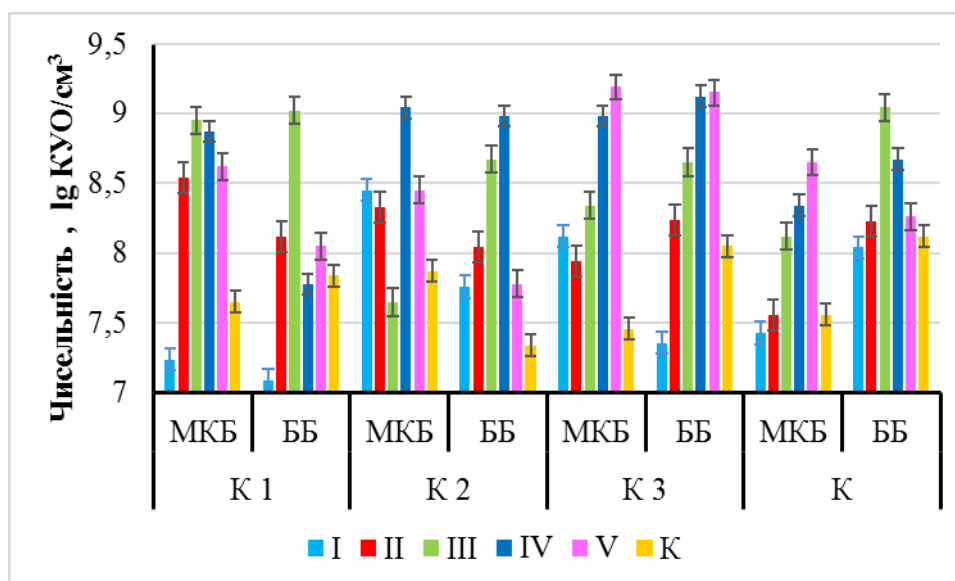


Рис. 3.
Чисельність
лакто- та
біфідобактерій
при культивуванні
у поживних
середовищах

Було досліджено вплив складу захисних середовищ на властивості бакпрепаратів. Для цього використовували біомасу К1, К2, К3, відокремлену від культуральної рідини шляхом центрифугування. Підбір варіантів захисних середовищ базувався на результатах попередніх досліджень.

Концентрат бактеріальної маси змішували у співвідношенні 1:2 із захисними середовищами (ЗС). До їх складу було введено сполуки, які підвищують стійкість молочнокислих бактерій до заморожування та сушіння: білкові (СЗМ) та вуглеводні компоненти (сахарозу, трегалозу), а також солі (цитрат натрію, гідрокарбонат натрію). Відомо, що введення останніх позитивно впливає на розчинність бактеріальних препаратів. Для забезпечення належного рівня реактивації біомаси додатково вводили «Три-сол», як активатор росту композиції.

Так, після ліофілізації чисельність життєздатних МКБ у концентраті без ЗС зменшилась на 14,6 %, застосування ЗС у варіантах 1-6 призвело до їхньої втрати на (1,7-13,2) %. Ступінь виживання лактобактерій був найвищим у концентратах 3, 4, 6. Застосування ЗС (за винятком варіанту 5) сприяло зменшенню втрат біфідобактерій на (0,8-3,7) %.

Отже, під час ліофілізації найліпший захисний ефект на композицію культур справляли ЗС 3, ЗС 4 і ЗС 6, які забезпечували виживання (95-98) % клітин. Проведені дослідження показали, що введення до складу захисних середовищ додаткового компоненту «Три-сол» забезпечує високий ступінь виживання мікроорганізмів за ліофільного сушіння та реактивації.

Враховуючи опрацьовані технологічні режими, у напівпромислових умовах було вироблено партії функціональних добавок. Схему технологічного процесу виробництва сухих бакпрепаратів представлено на рис. 4.

Основні параметри біотехнології наступні: кількість інокуляту складає 6 % від об'єму поживного середовища; тривалість нарощування біомаси за температури $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ - 14 год; вилучення біомаси; змішування її у пропорції 1:2 із захисним середовищем, що містило 10 % сахарози, 5 % сухого знежиреного молока, 7 % трегалози, 5% желатину та 2,5 % вітамінно-мінеральної суміші Три-сол. Висушені композиції було проаналізовано за основними показниками якості, що представлені у табл. 2.

Таблиця 2

Основні характеристики функціональних добавок

Назва показника	Характеристика добавки		
	БК-Т	БК-П	БК-Пт
Вихід сирової біомаси із ферментера, г/75 л	1570 \pm 250	1820 \pm 170	1740 \pm 210
Співвідношення між БМ та ЗС	1:2		
Загальна кількість МКБ, КУО/г	$(2,8 \pm 1,14) \cdot 10^{11}$	$(3,8 \pm 2,2) \cdot 10^{11}$	$(3,4 \pm 2,14) \cdot 10^{11}$
Загальна кількість ББ, КУО/г	$(3,4 \pm 2,25) \cdot 10^{11}$	$(2,1 \pm 1,1) \cdot 10^{11}$	$(4,1 \pm 1,8) \cdot 10^{11}$
БГКП (коліформи), в 1 г	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Дріжджі та плісняви, в 1 г	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Масова частка вологи, %	4,3 \pm 0,2		

Одержані бактеріальні концентрати мали вигляд однорідної порошкової маси кремового або світло-коричневого кольору без запаху, солодкуваті на смак. В 1 г препарату містилося молочнокислих мікроорганізмів $(2,8-8,8) \cdot 10^{11}$ КУО/г та біфідобактерій $(2,1-4,1) \cdot 10^{11}$ КУО/г.

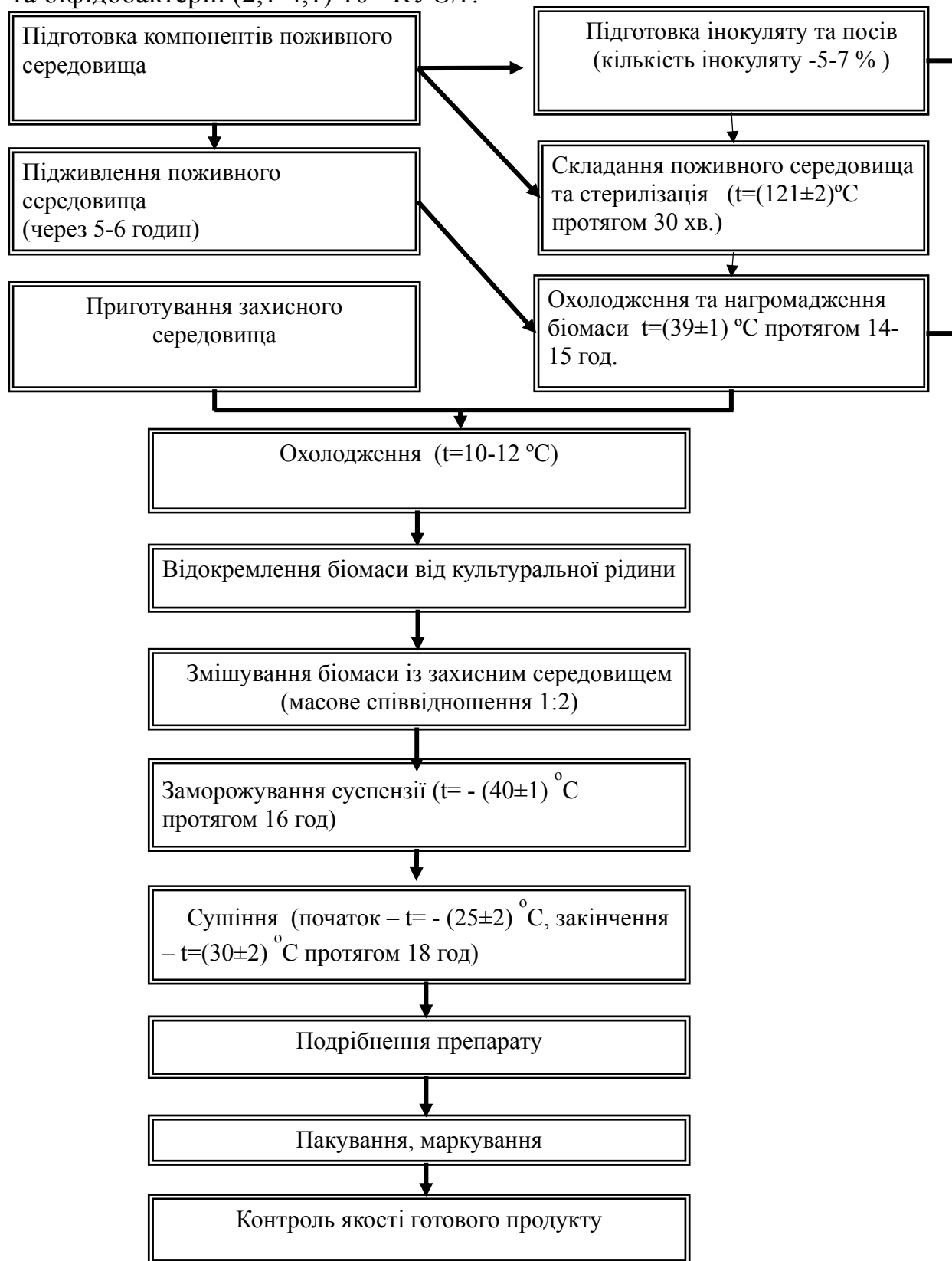


Рис. 4. Схема технологічного процесу виробництва функціональних добавок

Отримані дані свідчать, що ефективнішим було зберігання функціональних добавок за від'ємних температур, забезпечуючи загальну чисельність лактобактерій на рівні $4,8 \cdot 10^{10}$ КУО/г та кількість біфідобактерій близько $1,2 \cdot 10^{10}$ КУО/г через 18 місяців, тоді як при зберіганні за температур від 2 °С до 6 °С такі показники буде досягнуто вже через 9 місяців з дати виготовлення.

Експериментально встановлено, що термін придатності до споживання сухих функціональних добавок складає – за температури від 2 до 6 °С 9 місяців, від мінус 18 до мінус 20 °С – 18 місяців.

У п'ятому розділі – «Вплив функціональної добавки «БК-Пт» на інтенсивність росту курчат-бройлерів» – наведено результати досліджень з визначання раціональної дози функціональної добавки «БК-Пт» та її впливу на продуктивність, збереженість курчат-бройлерів та якість отриманої сировини.

Для цього було сформовано 4 групи з добових курчат-бройлерів кросу "Кобб-500» по 50 голів у кожній групі, яким до основного раціону додавали функціональну добавку у кількості 0,5 г (група 2), 1,0 г (група 3), 2,0 г (група 4) на 1 кг комбікорму, для контрольної групи 1 добавку не застосовували. Середньодобовий приріст у всіх дослідних групах був вищим ніж у контролі (51,9 г) та склав 54,8-57,9 г (рис. 5).

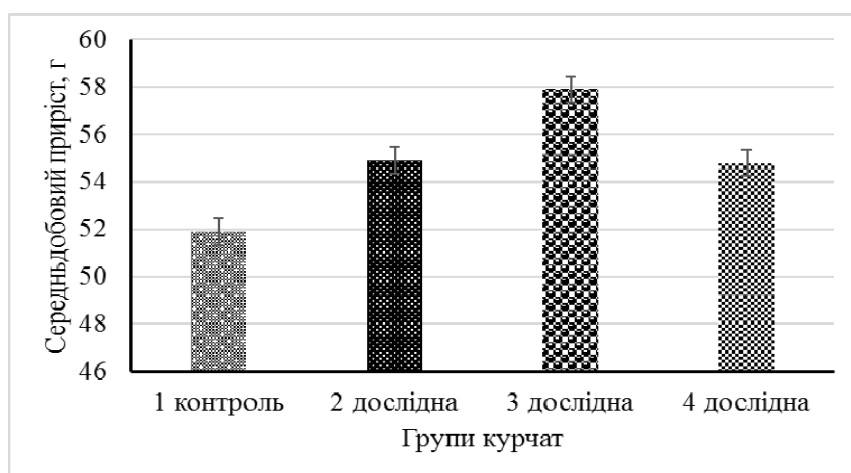


Рис. 5. Середньодобові прирости курчат бройлерів за період вирощування 1-38 добу.

Ефективність вирощування бройлерів оцінювали за європейським індексом продуктивності (TBG). У дослідних групах він склав 296,91-342,83 од. Найвищий індекс продуктивності отримано в 2-й дослідній групі – 342,83 од.

Також додавання до основного раціону функціональної добавки «БК-Пт» дозволило отримати тушки курчат-бройлерів з більшою біологічною цінністю м'яса. Завдяки даному препарату відбулося збільшення незамінних амінокислот у грудних м'язах курчат 3-ї групи на 2,7 % порівняно з контролем, та в ніжках - на 10,4 %. Це підтверджує покращення дієтичних властивостей м'яса птиці.

Встановлено, що з усіх дослідних груп кращі результати продуктивності було отримано в 3-й дослідній групі при додаванні до основного раціону 1,0 г функціональної добавки на 1 кг комбікорму.

Динаміка формування мікробіоценозу у курчат-бройлерів контрольної та дослідних груп в цілому не відрізнялися. Однак виявлено істотні відмінності в

інтенсивності колонізації кишечника мікроорганізмами. Склад мікробіоти сліпої кишки курчат-бройлерів наведено на рис. 6.

При застосуванні функціональної добавки БК-Пт проявляються чітко виражені закономірності зміни мікробного біоценозу в кишківнику курчат. Спостерігалась тенденція до більш інтенсивного заселенню кишківника представниками нормальної біфідо- та лактофлори.

Для здорової птиці характерно, що поряд з нормальною мікробіотою можуть бути присутніми патогенні мікроорганізми. Нормальна мікробіота виконує захисну функцію. Відгодовування курчат-бройлерів впродовж всього періоду вирощування з додаванням функціональної добавки «БК-Пт» (у кількості 1,0 кг/т корму) сприяло санації мікробіоти сліпої кишки, що проявлялось зменшенням кількості кишкової палички та кокових форм мікроорганізмів.

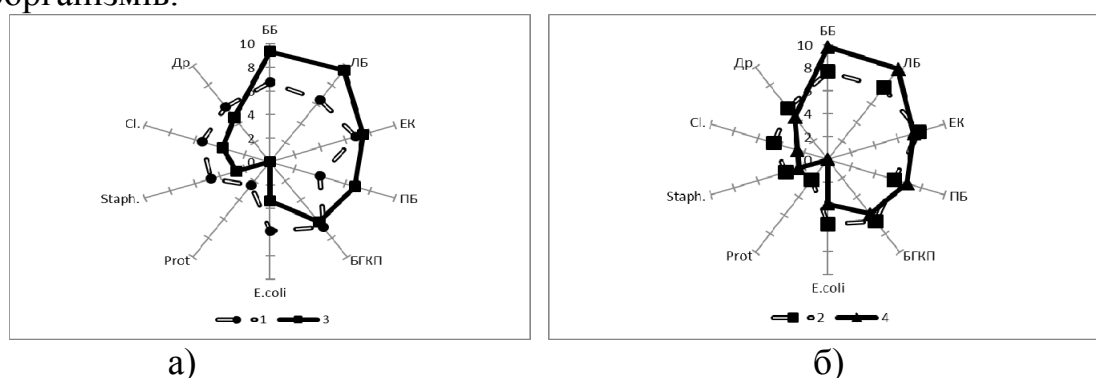


Рис. 6. Кількість мікроорганізмів у сліпій кишці курчат-бройлерів на 38-добу вирощування, lg КУО/г а) 1 та 3 дослідної групи б) 2 та 4 дослідної групи (ББ- біфідобактерії, ПБ – пропіоновікислі бактерії, ЕК – ентерококи, ЛБ- лактобактерії, БГКП- бактерії групи кишкових паличок, Др. – дріжджі, Prot. – протей, Staph. – стафілококи, Cl. – клостридії).

Хімічний склад та енергетична цінність є необхідними показниками якості м'яса (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив функціональної добавки БК-Пт на хімічний склад та енергетичну цінність філе курчат-бройлерів

Показники	Групи курчат			
	1	2	3	4
Волога, %	75±1,2	73,4±1,03	73,8±1,14	73,5±1,27
Протеїн, %	19,94±0,17	21,87±0,12	23,08±0,18	21,84±0,21
Жир, %	4,32±0,09	3,44±0,04	3,31±0,07	3,82±0,06
Зола, %	0,94±0,01	1,29±0,012	0,81±0,011	0,84±0,014
a_w , од. a_w	0,997±0,003	0,996±0,006	0,996±0,004	0,995±0,005
pH, од pH	6,22±0,11	6,12±0,09	5,97±0,08	6,02±0,11
Енергетична цінність, ккал в 100 г	110,72±1,62	118,44±1,34	117,27±1,12	121,74±1,25

З приведених даних видно, що достовірної різниці між групами не встановлено, проте м'язова тканина курчат дослідних груп відрізняється від контрольної меншим вмістом води, жиру і зольних сполук та більшим вмістом протеїну. Вміст протеїну в білому м'ясі курчат 3-ї групи склав 23,08 %, що на 3,14 % вище, ніж в 1 -й, і на 0,96 %, ніж у 2-й групі.

Вміст протеїну в ніжках курчат був на рівні 15,65-19,01 %, при цьому у 3 третій дослідній групі встановлено його збільшення на 21,5 %.

У шостому розділі – «Застосування функціональної добавки БК-П у відгодівлі поросят» – наведено результати перевірки ефективності функціональної добавки БК-П при застосуванні її поросятм різного віку.

Для цього було сформовано чотири групи тварин, а саме: 1 група (1-35 денні поросята), випоювали з розрахунку 0,2 г на 1 кг маси тіла, один раз на добу, протягом 3 днів; 2 група (1-35 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки); 3 група (35-60 денні поросята) – давали препарат, змішаний з кормом, з розрахунку 2 г на 10 кг маси тіла протягом 5 днів; 4 група (35-60 денні поросята) – контрольна (без функціональної добавки). Препарат ретельно перемішували з молоком (до віку 30 днів) або водою (після віку 30 днів), після чого використовували для збагачення основного раціону.

Упродовж дослідження спостерігали збільшення середньодобових приростів живої маси, що свідчить про ефективність застосування функціональної добавки (табл. 4).

Таблиця 4

Динаміка живої маси поросят (n=10)

Група поросят	Середня жива маса на початку досліджу, кг	Середня жива маса на кінець досліджу, кг	Приріст живої маси за період досліджу, кг	Середньо добовий приріст, кг	% до контролю
1	1,2±1,35	7,78±1,16	6,58±0,83	0,22	15,8
2 (К)	1,28±1,04	6,86±0,67	5,68±1,01	0,19	
3	6,12±0,56	22,3±0,99	16,18±0,57	0,65	20,4
4 (К)	6,21±0,34	19,6±0,54	13,39±0,64	0,54	

Залучення до раціону годування функціональної добавки БК-П позитивно вплинуло на забійні та м'ясні якості піддослідних поросят. Наведені в табл. 6 дані щодо інтенсивності приросту поросят на тлі застосування функціональної добавки БК-П свідчать про те, що з народження до двох місяців достовірних відмінностей за середньодобовими приростом між групами не спостерігалось.

У віці 30 діб у поросят переважали біфідобактерії (9,8-10,8 lg КУО/г), другими за чисельністю були МКБ (8,4 - 8,9) lg КУО/г, третіми — ешеріхії (7,6-7,9) lg КУО/г, четвертими — ентерококи (6,3-6,8) lg КУО/г. У всіх тварин цієї вікової групи кількість дріжджів та плісені коливалась у межах (1,2-3,4) lg КУО/г, клостридії (3,2-4,2) lg КУО/г та стафілококи – (4,6-6,0) lg КУО/г.

Нормальний мікробіоценоз кишківника, що характеризується перевагою біфідо- і лактобактерій, остаточно встановлюється у поросят зазвичай до 30-денного віку. До цього часу в кишечнику переважають ешерихії, ентерококи та інші аеробні і факультативно-анаеробні бактерії, які не здатні ефективно виконувати основні фізіологічні функції, в тому числі забезпечувати надійну колонізаційну резистентність. Фактично можна говорити про те, що перші 3 тижні життя у поросят спостерігають «природний дисбактеріоз», пов'язаний зі становленням кишкової мікробіоти.

Аналіз впливу функціональної добавки БК-П на формування кишкової популяції МКБ виявив наступне. Починаючи з першого дня випоювання з функціональною добавкою спостерігали повільне зростання популяційного рівня МКБ у фекальному вмісті поросят дослідної групи порівняно з контрольними значеннями. У цей період кількість МКБ у кишкового мікробіоценозі поросят віком 30 діб склала $8,9 \pm 0,1$ lg КУО/г і була достовірно вище ніж контрольне значення $8,4 \pm 0,1$ lg КУО/г

Оцінюючи м'ясо, особливу увагу звертають на його якісні показники та хімічний склад, від яких залежать технологічні і харчові властивості. Зокрема, якість м'яса визначається його хімічним складом і співвідношенням в ньому протеїну і жиру. Порівняльне оцінювання якості м'яса тварин проводили на зразках найдовшого м'яза спини (табл. 5).

Таблиця 5

Хімічний склад найдовшого м'яза спини дослідних свиней (n=5)

Показник	Групи тварин	
	Контроль	Дослід
Суха речовина, %	$23,52 \pm 0,72$	$24,78 \pm 1,01$
Протеїн, %	$19,78 \pm 0,99$	$21,66 \pm 0,86$
Жир, %	$2,99 \pm 0,05$	$2,56 \pm 0,09$
Зола, %	$0,75 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,05$
Співвідношення протеїн:сухі речовини	0,84	0,87
Співвідношення протеїн:жир	6,62	8,46

Уміст сухої речовини в найдовшому м'язі спини був вищим у тварин дослідної групи і переважав показник контрольної групи на 1,26 %. Більша кількість сухої речовини у свинині, отриманій від підсвинків дослідної групи, забезпечувалася вищим вмістом протеїну та меншим вмістом жиру, відповідно на 1,88 та 0,43 у порівнянні з контрольною групою. Вміст жиру в м'ясі тварин контрольної групи складав 2,99% проти 2,56% у дослідній групі. Вміст золи був найвищим у м'ясі свиней контрольної групи – 1,25%.

Дані таблиці 5 свідчать про помітний вплив функціональної добавки «БК-П» на хімічні показники м'яса через систему травлення. Спостерігається зниження вмісту води і підвищення концентрації сухої речовини, протеїну, а також зменшення жиру з незначною зміною мінеральних речовин.

Встановлено, що застосування функціональної добавки «БК-П» у відгодівлі свиней у дозуванні 25 мг на голову дозволяє отримати додатковий

прибуток; економічний ефект склав 6991,5 грн в розрахунку на групу або 139,83 грн на 1 голову.

У сьомому розділі – «Застосування препарату «БК-Т» у відгодівлі телят» – викладено дані щодо визначання токсичності функціональної добавки «БК-Т», яке виконували на білих щурах 3-4-місячного віку масою тіла 170-180 г, та перевірку її функціональної активності на телятах.

Виявлено, що збереженість щурів як у дослідній, так і в контрольній групах становила 100 %. Дослідні тварини добре вживали корм і воду, поведінка відповідала нормі (рухливі, активні). Відразу після введення препарату фізіологічний стан тварин також був в нормі. На наступну добу змін в клінічному стані та загибелі дослідних тварин не виявлено.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що введення функціональної добавки у дозі 0,5 см³ не призводить до загибелі тварин і не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, що вказує на відсутність значимої токсичної дії препарату в даній дозі та характеризує його як практично нетоксичний (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин. Також доведено, що функціональна добавка «БК-Т» належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин, і її тривале застосування у терапевтичній дозі не впливало на функціональний стан внутрішніх органів.

Ефективність профілактики шлунково-кишкових захворювань новонароджених телят нової функціональної добавки «БК-Т» (Д2) порівнювали з близьким за складом мікроорганізмів бактеріальним концентратом «Симбілакт-М» (Д1), використовуваним для виробництва функціонального кисломолочного напою. Контролем слугувала група телят на традиційному раціоні.

Експериментально простежено вплив згаданих добавок і бакконцентрату на збереження і захворюваність дослідних тварин (табл. 6). Встановлено, що у телят обох груп, до раціону яких додавали функціональну добавку, збереженість впродовж всього досліді становила 100%.

Упродовж досліджень реєстрували всі випадки захворювання телят. Прояви хвороби фіксували у телят всіх піддослідних груп, однак, найбільш сприйнятливими до захворювання були тварини контрольної групи, в яких тривалість хвороби склала 4 доби, проти 3 та 1 днів в дослідних групах. Коефіцієнт Мелленберга в дослідних групах склав 0,42 і 0,27 проти 4 у контрольній групі, що свідчить про важкий перебіг захворювань. З отриманих даних випливає, що застосування бактеріальних препаратів телятам попереджує захворювання органів ШКТ, скорочує тривалість хвороби і зменшує значення коефіцієнту Мелленберга.

Маса тварин при народженні суттєво впливає на подальший розвиток організму.

Таблиця 6

Збереженість та захворюваність дослідних телят за застосування біотехнологічних продуктів «БК-Т» та «Симбілакт-М»

№ п/п	Показник	Од. вим	Група		
			Д I	Д II	К
1	Кількість телят у групі:				
	На початок дослідів	гол.	24	18	10
	На кінець дослідів	гол.	24	18	10
2	Збереженість телят	%	100	100	100
3	Захворюваність	%	8	22	60
4	Захворюваність за коефіцієнтом Мелленберга	од.	0,42	0,27	4
5	Захворіло	гол.	2	4	6
6	Середня кількість днів хвороби	доб а.	3	1	4

У таблиці 7 наведено динаміку живої маси дослідних тварин. Для перевірки ефективності новоствореної функціональної добавки «БК-Т» було сформовано дві групи телят по 24 голови, а саме: Дослід - випоюванням функціональною добавкою «БК-Т» з розрахунку 100-150 см³ після першого випоювання молозива, контрольна (без функціональної добавки).

Таблиця 7

Динаміка живої маси піддослідних телят, кг

Вік, міс	Група	
	Д	К
При народженні	23,78±0,88	23,26±0,78
3	108,18±0,91	101,74±0,77
6	179,79±1,28	168,66±1,82
12	335,51±2,81	315,66±1,75

З даних таблиці 7 видно, що жива маса бичків при народженні була практично однаковою і між групами достовірної різниці не виявлено. Однак в процесі подальшого зростання від народження до 12 місяців, бички дослідної групи за живою масою перевершували однолітків контрольної групи на 19,85 кг. Вихід туші у бичків дослідної групи був більшим ніж у тварин контрольної групи та склав 56,15 % (контроль - 54,81 %).

Отже, використання функціональної добавки «БК-Т» при вирощуванні молодняку ВРХ до 12 місячного віку позитивно впливає на збереження, приріст живої ваги.

Проби м'яса аналізували через 48 годин після забою тварин, коли

відносно стабілізувалися основні фізіологічні і хімічні процеси в м'язовій тканині (табл. 8).

Таблиця 8

Хімічний склад м'язової тканини бичків

<i>Показник</i>	<i>Група</i>	
	<i>К</i>	<i>Д</i>
Волога, %	66,76±0,89	65,42±0,91
СР, %	33,24	34,58
Протеїн, %	18,88±0,19	20,34±1,01
Жир, %	12,02±0,81	11,92±0,23
Зола, %	1,66±0,41	2,32±0,57
Співвідношення вода:протеїн	3,52	3,21
Співвідношення вода:жир	5,55	5,48
Співвідношення протеїн: жир	1,57	1,72
Показник стиглості, %	17,01	18,02
Калорійність, ккал/кг	1892,52	1942,81

Порівнюючи отримані дані за хімічним складом і калорійністю м'язової тканини туш між бичками дослідних груп, можна констатувати, що статистично достовірної різниці не встановлено. Однак, слід зазначити, що в м'язовій тканині тварин дослідних груп встановлено загальну тенденцію збільшення сухої речовини, протеїну та жиру а, отже, і калорійності. Так, за змістом протеїну в м'ясі бички контрольної групи поступалися одноліткам дослідної групи на 1,46 %. За змістом сухої речовини тварини дослідної групи перевершували контрольну групу на 1,91 %.

Визначення хімічного складу і деяких фізико-технологічних властивостей найдовшого м'язу спини свідчить, що для бичків дослідної групи вміст вологи була на 1,7 % менше ніж для бичків контрольної групи, кількість протеїну зросла на 3,2 %. Простежується збільшення кількості сухої речовини і внутрішньом'язового жиру при одночасному зниженні вмісту вологи. Це відбилося і на енергетичній цінності найдовшого м'язу спини. Зокрема, у бичків дослідної групи енергетична цінність 1 кг м'язу становила 4,45 МДж, що вище на 18,4 %, ніж у однолітків контрольної групи. Прибуток від реалізації сировини становить 589,3 грн на 1 голову.

У восьмому розділі – «Селекція штамів мікроорганізмів, які є перспективними для ферментування м'ясних продуктів» – наведено етапи селекції штамів мікроорганізмів, які є перспективними для ферментування м'ясних продуктів (табл. 9).

Встановлено, що кожен продукт характеризувався власним співвідношенням між окремими групами мікроорганізмів. Кількісний вміст МКБ, КПК у досліджених сиров'ялених виробках був на два-три порядки нижче ніж у сиров'ялених. Це ймовірно, є результатом жорсткішої температурної обробки в процесі виробництва продуктів.

Ідентифікацію культур проводили за комплексом культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних ознак відповідно до визначника Бергі.

Таблиця 9

Кількісний та якісний склад мікробіоти ферментованих м'ясних продуктів непромислового виробництва

№ п/п	Продукти	Кількість зразків	Чисельність, lg КУО/г		
			МКБ	КПК	Дріжджі
1	Сиров'ялені зі свинини	5	3,4-6,2	3,7-5,8	2,4-2,7
2	Сиров'ялені з яловичини	4	4,76-6,11	3,6-4,25	2,45-3,22
3	Сирокопчені зі свинини	8	2,5-4,8	3,0-3,9	1,74-2,75
4	Сирокопчені з яловичини	7	2,5-6,0	3,0-4,8	2,24-4,35
5	Сирокопчені з курятини	4	3,25-5,1	3,34-4,2	1,76-2,7

На підставі дослідження біологічних властивостей та оцінки їх технологічного потенціалу відібрано до колекції промислових штамів ІПР НААН 35 високопродуктивних культур: *L. curvatus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, *L. casei*, *L. sakei*, *L. casei* ssp. *tolerans*, *Propionibacterium acnes*, *M. varians*, *M. roseus*, *M. nishinomiyaensis*, *Staphylococcus simulans*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. epidermis*, *M. luteus*, *K. kristinae*, *S. carnosus*, з яких 7 задепоновано у Національному депозитарії промислових мікроорганізмів ІМВ НАНУ.

У дев'ятому розділі – «Складання заквашувальних композицій для ферментації м'ясної сировини» – наведено біотехнологічні особливості komponування композицій для ферментації м'ясної сировини. Для створення трьох- чотирьох- та п'ятиштамових композицій було використано бінарні комбінації з різним композиційним складом, зокрема, 7 композицій з мікрококами та 6 – із стафілококами (рис. 7).

Опрацьовано основні технологічні параметри: склад і дозу інокуляту, склад ПС, особливості і режими культивування, сепарування та консервування біомаси.

Основними критеріями оцінювання перспективності заквашувальних композицій для ферментування м'ясної сировини були чисельність клітин кожного зі складників композиції, нітритредукувальна та протеолітична активності. За контроль (К-1) було взято заквашувальну композицію “Лакмік”, до складу якої входила чотирьохкомпонентна комбінація штамів *L. casei* ssp. *rhamnosus*, *L. casei* ssp. *casei*, *L. plantarum*, *M. varians*.

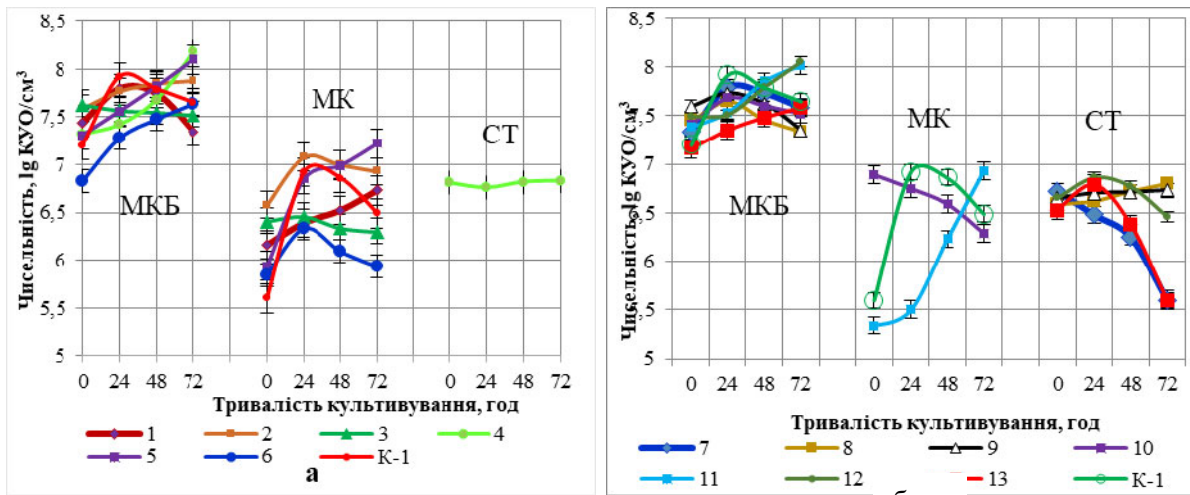


Рис. 7. Динаміка чисельності заквашувальних композицій, ... до часу спільного культивування №1-6 (а), №7-13 (б). (МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, СТ – стафілококи).

В усіх створених композиціях спостерігали приріст лактобактерій на 24 годину росту, а на кінець культивування у МПБ продовжувався приріст у композиціях № 2, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13 у 4,3–6,5 разів (рис. 7). Композиції № 1, 8 характеризувалися зниженням чисельності молочнокислих бактерій у 1,3 рази до початкового вмісту. У композиціях № 1, 2, 5, 11, незважаючи на низький рівень рН, помічено приріст мікрококів у 3,7–28,6 рази що до початкового вмісту. Приріст мікрококів на 72 год культивування у решти композицій зменшився у 1,2–2 рази.

У композиціях зі стафілококами № 8, 9 помічено їхній приріст у 3 рази до початкового вмісту (див. рис. 7 б)). А у композиціях № 4, 7, 12, 13 спостерігали пригнічення стафілококів лактобактеріями, їхня чисельність залишалася на рівні початкової кількості, або зменшилася в 1,5 рази.

Отже, встановлено, що найстабільнішими за співвідношенням між складниками були композиції молочнокислих бактерій з мікрококами (№ 2, 5, 6, 11), та зі стафілококами - (№ 4, 9). За час культивування чисельність мікроорганізмів зростає: МКБ – у 4,3–6,5 разів та мікрококів і стафілококів – у 7,7–28,6 разів. Для цих композицій спостерігали взаємне стимулювання складників, яке сприяло активному розвитку мікроорганізмів.

Нітритредукувальна активність. Для утворення стабільного кольору м'ясопродуктів необхідно вносити культури з високою нітритредукувальною активністю, а саме мікрококи, стафілококи та молочнокислі бактерії (рис. 8).

Встановлено, що досліджені композиції активно знижували вміст нітритів у культуральному середовищі – на 41 - 83 % від початкового. У контролі вміст нітритів залишався постійним упродовж всього експерименту (крива К).

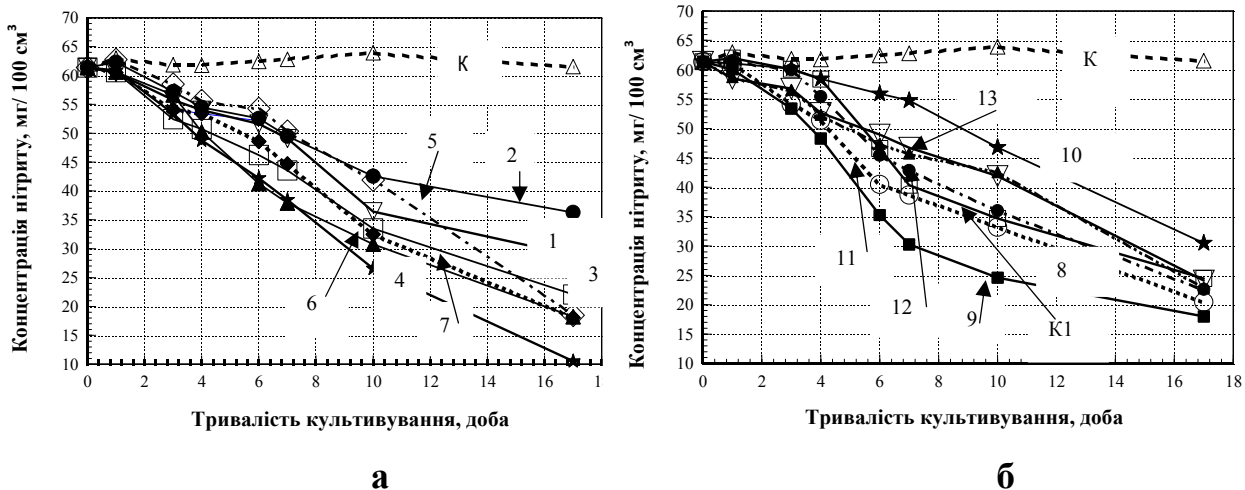


Рис. 8. Динаміка зміни вмісту нітриту натрію під час культивування заквашувальних композицій №1-7 (а), №8-14 (б). К – контроль середовища без мікроорганізмів.

На кінець ферментування залишкова концентрація нітриту натрію у культуральній рідині, інокульованій композиціями з мікрококами та стафілококами, становила (36,3–18,2) мг/100 см³ та (24,5–10,5) мг/100 см³, відповідно. Заквашувальні композиції № 4, 6, 7, 9, які відновлювали нітрит у культуральному середовищі на 70-83%, є перспективними для ферментування м'ясної сировини. Вказані композиції характеризувались вищою нітритредукуючою активністю, ніж відома за літературними даними [Dodds K.L., 1984].

Остаточно як перспективні для створення бактеріального препарату було вибрано 2 заквашувальні композиції наступного складу та співвідношення між штамми: №1 - "ЛРР" *L. rhamnosus* (1У-2 + 10Р) + *Kocuria rosea* 7В (2:2:2) та № 2 - "КПК" (*L. casei* ssp. *casei* (6002 + 6007) + *L. plantarum* 2037 + *Kocuria rosea* М 6-3 (1:1:2:2).

Оскільки лакто- (МКБ) і мікрококи (МК) характеризуються різними вимогами до джерел живлення і енергії, для здійснення їх спільного культивування необхідно підібрати такий склад середовища, що буде оптимальним для розвитку кожного з мікробних компонентів.

Як контроль (К) було обрано середовище на основі м'ясопептонного бульйону з додаванням глюкози.

Поживні середовища готували на воді з додаванням компонентів, які необхідні для успішного розвитку бактерій – джерел вуглецю, азоту, мікроелементів. Було розроблено п'ять варіантів поживних середовищ, які розрізнялись між собою за джерелом та кількістю азотного та вуглецевого компонентів.

Основа цих середовищ склали цитриновий та оцтовокислий натрій, мінеральні солі Mg і Mn, Твін-80, NaCl та пептон. Поживне середовище № 1 готували на вищезначеній основі з додаванням суміші глюкози, аскорбінової кислоти, сульфату заліза, фосфатів. Для середовища № 2 використовували глюкозу та лактозу, у співвідношенні (1:1), додатково вносили сульфат заліза

поживний бульйон, або м'ясну воду та вітамін В₁₂; зменшували вміст пептону вдвічі, не долучали аскорбінову кислоту та кукурудзяний екстракт (КЕ). До основи середовища № 3 додавали глюкозу та лактозу, як у середовищі № 2, сухе знежирене молоко (СЗМ), аскорбінову кислоту в кількості в п'ять разів більший, ніж у № 1, а також дріжджовий автолізат (ДА) як джерело амінокислот та вітамінів, не долучали такі компоненти, як КЕ, поживний бульйон, вітамін В₁₂, та сіль фосфату амонію.

Відібрані композиції “ЛРР” та “КПК” мали температурний оптимум росту у межах (30-35) °С, тому культивування вели за температури (32±1) °С впродовж 18 год. Інтенсивність розвитку заквашувальних культур у поживних середовищах оцінювали за динамікою нагромадження клітин, оптичною густиною та зміною активної кислотності (рис. 9).

Найкращі показники приросту чисельності композиції “ЛРР” було отримано на середовищах № 2, № 4, в яких урожайність молочнокислих бактерій сягала $(1,1-2,1) \cdot 10^9$ КУО/см³, а мікрококів - $(1,0-1,73) \cdot 10^7$ КУО/см³. Композиція “КПК” мала найбільший приріст чисельності у середовищах № 2 та № 3. Ці середовища були відібрані для наступних досліджень.

Культивування композицій “ЛРР” та “КПК” вели впродовж 16-24 год за температури (32±1) °С. Кількість інокуляту складала 6 % від об'єму середовища. Для нагромадження бактеріальної маси композицій було використано постадійний спосіб культивування. Спочатку вирощували мікрокок упродовж 3 год, а потім додавали суміш молочнокислих бактерій і продовжували спільне культивування до означеного терміну. Цей спосіб був експериментально підтверджений на прикладі препарату “Лакмік” та “МКС” [Король Ц.О., 2008; Бурцева Г.В., 2011].

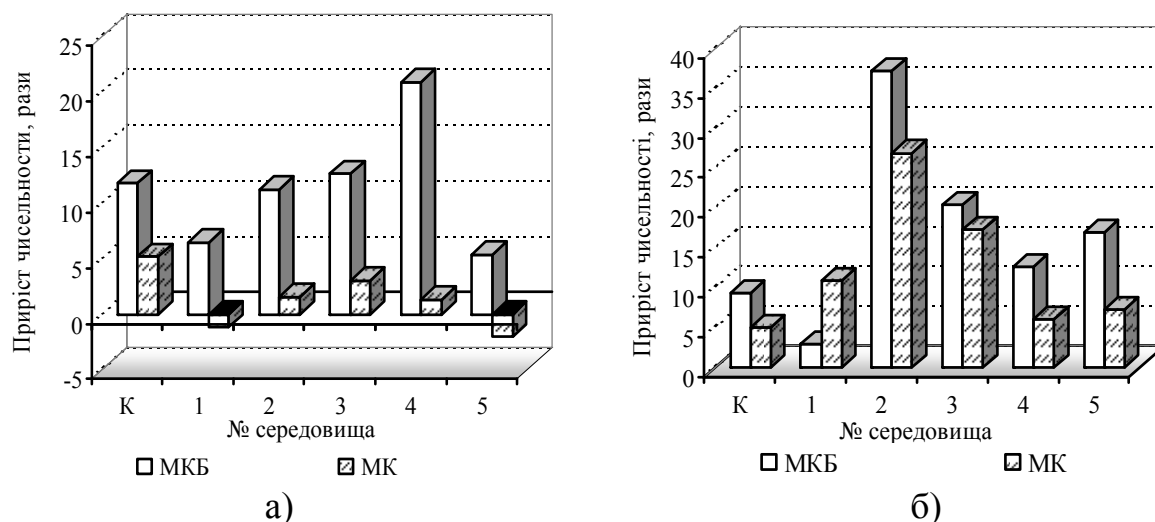


Рис. 9. Нагромадження біомаси відібраної композиції ЛРР (а) та композиції КПК (б) за культивування у різних середовищах (МКБ – молочнокислі бактерії, МК- мікрококи).

Розвиток мікроорганізмів оцінювали за зміною активної кислотності, чисельності бактерій та ступенем гідролізу джерел вуглецю (лактози і глюкози) й органічного азоту (пептидів). Концентрацію біомаси композиції „ЛРР” у

досліджуваних середовищах розраховували, виходячи з того, що $1,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ становили 2,92 мг/см³ сирової біомаси (табл. 10).

Таблиця 10

Основні параметри росту композиції “ЛРР”
***L. rhamnosus* (1Y-2 + 10P) + *K. rosea* 7B**

Середовища	Компоненти ЗК	X , КУО/см ³	ν , год ⁻¹	T_b , год	g , год
ПС № 2	МКБ	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,40	0,63	1,92
	МК	$(3,2 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,14	5,09	4,34
ПС № 3	МКБ	$(4,0 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,59	2,33	1,18
	МК	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	0,26	4,13	2,5
ПС № 4	МКБ	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^9$	0,41	1,33	1,39
	МК	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	0,11	5,08	4,17

Вирощування композиції „ЛРР” здійснювали за умов періодичної нейтралізації культуральної рідини 25 % розчином NH₄OH через 3 год, 6 год, 9 год культивування, та без неї, підтримуючи рН на рівні 6,5-6,6.

Нейтралізація культуральної рідини через 6 годин дозволила прискорити основні фази розвитку композиції в усіх дослідних середовищах, а саме, скоротити термін генерації молочнокислих бактерій на (4 - 37) %, підвищити константу швидкості поділу клітин (ν) молочнокислих бактерій у (1,1 - 1,6) рази та урожайність до $(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^9$ КУО/см³. Аналогічну тенденцію спостерігали стосовно мікрококів у дослідних середовищах. У них також скоротилась фаза затримки росту і термін генерації клітин на (3 - 25) % та (12 - 52) % відповідно, підвищилась константа швидкості поділу клітин (ν) в (1,1 - 1,4) рази та продуктивність до $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^8$ КУО/см³ (табл. 10).

Розвиток компонентів композиції “ЛРР” у ПС № 3 за умов нейтралізації культуральної рідини відрізнявся від росту у інших ПС, про що свідчать основні параметри росту. Перш за все, слід відмітити певну синхронність росту молочнокислих бактерій і мікрококів. Значення терміну генерації складало, відповідно, 1,18 і 2,5 год. Складники росли зі швидкістю поділу клітин у log-фазі 0,85 год⁻¹ для МКБ та 0,40 год⁻¹ для МК. Швидкість росту за весь термін культивування складала 0,59 і 0,26 год⁻¹.

Отже, надалі використовували поживне середовище № 3, яке забезпечувало розвиток всіх складників композиції “ЛРР”.

Динаміку нагромадження біомаси композиції „КПК” досліджували на поживних середовищах № 2 та № 3 за однакових умов з композицією “ЛРР”, тобто, з періодичною нейтралізацією культуральної рідини та без неї до кислотності 6,5-6,6 од. рН (рис. 10). Концентрацію біомаси композиції „КПК” в

досліджуваних середовищах розраховували виходячи з того, що $1,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ становили 3,54 мг/см³ сирої біомаси.

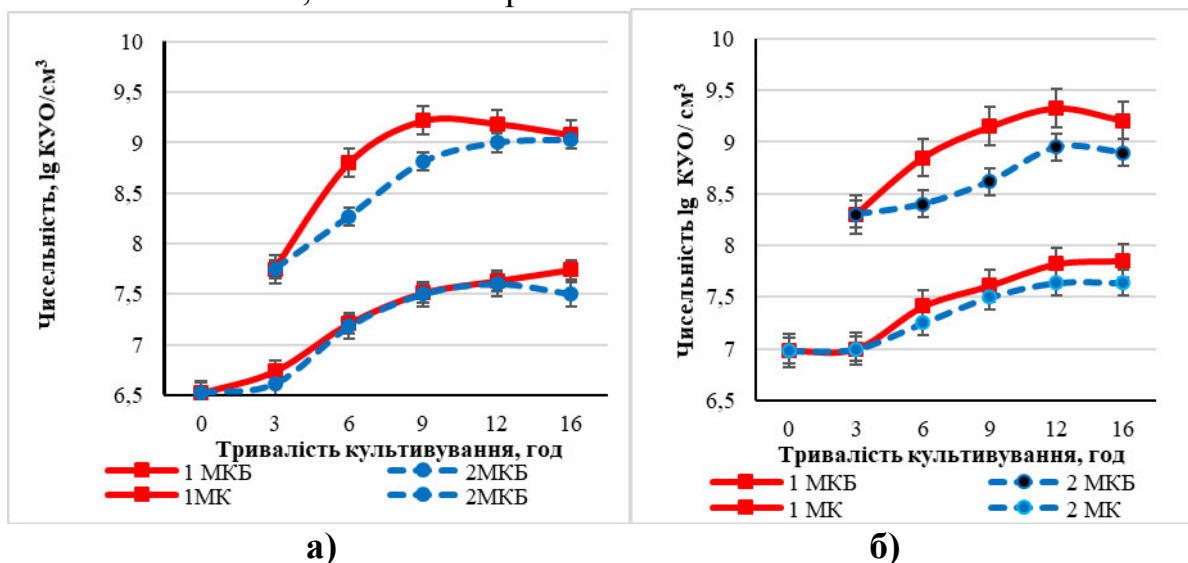


Рис. 10. Динаміка нарощування композиції “КПК” у поживних середовищах № 2 (а), № 3 (б) з періодичною нейтралізацією культуральної рідини та без неї (МКБ – молочнокислі бактерії, МК – мікрококи, 1 – періодична нейтралізація культуральної рідини, 2 – без нейтралізації).

Основні фази розвитку композиції “КПК” істотно розрізнялися за умов періодичної нейтралізації культуральної рідини в усіх дослідних середовищах. Зокрема, для молочнокислих бактерій у ПС № 2 та ПС № 3 прискорився термін генерації на (2– 47) %, зросла константа швидкості поділу клітин (ν) у (1,0-1,5) рази та урожайність до $(1,9 \div 2,3) \cdot 10^9$ КУО/см³. Щодо іншого компоненту композиції “КПК”, то спостерігали аналогічне прискорення розвитку мікрококів завдяки застосованим умовам культивування. У них також скоротився термін генерації клітин на (5 – 30) %, підвищилася константа швидкості поділу клітин (ν) в (1,0 - 1,2) рази та урожайність до $(5,3 \div 5,8) \cdot 10^7$ КУО/см³. Стабілізація рН культуральної рідини у цих дослідах підвищила швидкість поділу клітин (ν) композиції “КПК” в цілому у (1,1-1,5) рази порівняно з варіантом без контролю рН (рис. 10).

Найкращі результати досягалися в разі застосування середовища № 2, яке обумовлювало достатній розвиток як молочнокислих, так і мікрококів, та давало змогу отримати доволі високий вихід біомаси (урожайність – 3,31 мг/см³).

Одночасно було досліджено зміну біохімічного складу поживних середовищ при культивуванні обох дослідних композицій, результати яких представлено на рис. 11.

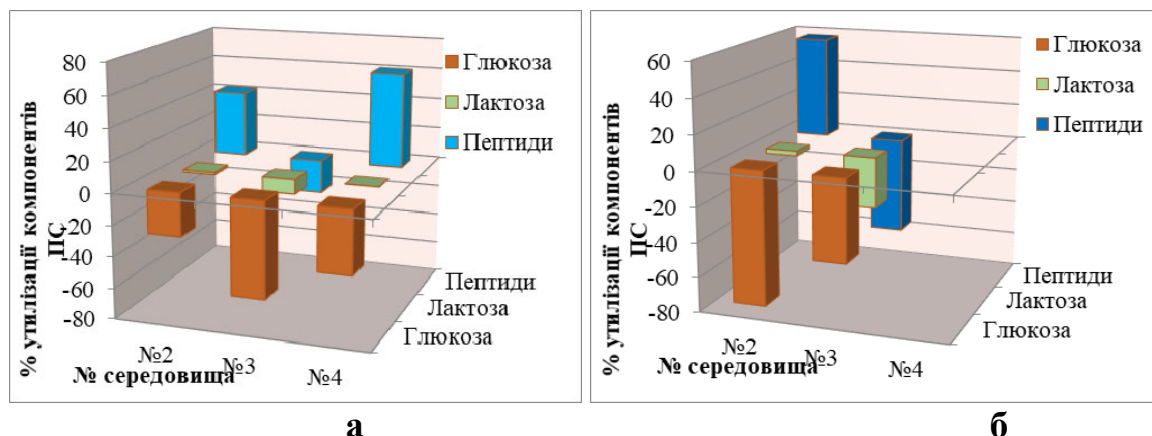


Рис. 11. Зміна складу поживних середовищ № 2-4 упродовж нарощування композицій “ЛРР”(а) “КПК” (б).

Вивчення споживання вуглеводів у середовищах композиціями “ЛРР” та “КПК” показало, що молочнокислі бактерії під час культивування інтенсивніше споживали глюкозу та біля 29 % внесеної кількості лактози.

Вміст лактози під час культивування композиції “ЛРР” у ПС № 2 та № 3 залишався майже на вихідному рівні (зниження лише на (1,4-9,5) % порівняно з початковою концентрацією), тоді як в решті ПС - зменшувався у межах від 28 % до 62 % (рис. 10). Інтенсивніше цей процес відбувався у середовищі № 3.

Щодо композиції “КПК”, то у ПС № 2 споживання глюкози відбувалось інтенсивніше на 30 %, ніж у ПС № 3. Упродовж культивування композиції вміст лактози залишався на одному рівні у ПС №2, та зменшився на 29 % у ПС № 3.

Встановлено тісний зв’язок між показниками активної кислотності культурального середовища та інтенсивністю споживання вуглеводного компоненту. Коефіцієнти кореляції склали для композиції “ЛРР” в усіх ПС $r=0,90 - 0,98$ ($n=8$; $P<0,05$) та для “КПК” $r=0,84-0,94$ ($n=8$; $P<0,05$). Це свідчило про нормальний перебіг молочнокислого бродіння.

Визначення пептидазної активності показало, що кількість джерел азоту у середовищах є цілком достатньою у ПС № 2 у разі культивування заквашувальних композиції “КПК”, та ПС № 3 для “ЛРР”.

Отже, було встановлено, що поживні середовища № 2 та № 3 забезпечували активний ріст як молочнокислих бактерій, так і мікрококів, що входять до складу композиції “КПК” та “ЛРР” відповідно. Характеристику готового бактеріального препарату “ЛРР”, отриманого за наведеною вище технологією, подано в табл. 11.

Препарати “ЛРР” та “КПК” – це однорідні порошки кремового кольору без запаху з масовою часткою вологи 5 %. Чисельність молочнокислих мікроорганізмів та мікрококу складає, відповідно, $1,0 \cdot 10^{10}$ КУО/г та $1,0 \cdot 10^8$ КУО/г. Санітарно-показова мікробіота (БГКП, *S. aureus*, сальмонели, дріжджі та плісняви) відсутня.

**Мікробіологічні та фізико-хімічні показники бактеріального
препарату “ЛРР” та “КПК”**

Назва показника	Значення показника
Кількість молочнокислих бактерій, КУО/г, не менше:	$(3,4-5,3) \cdot 10^{10}$
Кількість мікрококу, КУО/г, не менше	$(3,1-4,2) \cdot 10^8$
БГКП (коліформи), в 1 г	Відсутні
Дріжджі та плісняви, в 1 г	Відсутні
<i>Staphylococcus aureus</i> , в 1 г	Відсутні
Патогенні мікроорганізми в т.ч. роду Сальмонела в 10 г	Не допускаються
Масова частка вологи, %	5,0
Розчинність препарату, см ³ сирого осаду	0,5±0,1

Дослідження здатності препаратів “ЛРР” і “КПК” до зберігання дозволило визначити гарантований термін придатності до використання препарату:

- за температури $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 4 місяців із дати виробництва;
- за температури $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 1 місяців із дати виробництва
- за температури мінус $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$ – не більше 6 місяців із дати виробництва

У **десятому розділі** – «Ефективність застосування бактеріальних препаратів “ЛРР” та “КПК” під час ферментування м’ясної сировини» – було досліджено функціонування бактеріальних препаратів у м’ясній сировині, яку готували відповідно до рецептури сиров’яленого балику зі свинини.

Охолоджену сировину натирали призначеною для свинини 3,5 % посолочною сумішшю, яка складалася із 95 % солі та 5 % цукру та 0,75 % нітриту натрію. Дослідні варіанти свинини обробляли заквашувальними композиціями разом з посолочною сумішшю за наступною схемою. Варіант 1 заквашували композицією “ЛРР”: *L. rhamnosus* 1У-2, *L. rhamnosus* 10Р та *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5400; варіант 2 – “Лакмік”: *L. casei* 3302 + *L. rhamnosus* 3303 + *L. plantarum* 3200 + *M. varians* 5200; варіант 3 – “КПК” *L. casei* 6002 + *L. casei* 6007 + *L. plantarum* 2037 + *Kocuria rosea* (*M. roseus*) 5401.

Підготовлену у такий спосіб сировину витримували у холодильній камері за температури $(2-4)^\circ\text{C}$ упродовж 3 діб. Після закінчення посолу м’ясо злегка обмивали холодною водою і підсушували на гратці упродовж 2-3 годин, потім свинину піддавали сушінню упродовж 5 діб за температури $(12-15)^\circ\text{C}$. Тривалість усього технологічного процесу – 9 діб.

Початкова контамінація м’ясної сировини складала 4,7 lg КУО/г. Спонтанна мікробіота була представлена переважно МКБ, каталазопозитивними коками, дріжджами, спороутворювальними бактеріями і грамнегативними паличками. Коагулазопозитивні стафілококи, сальмонели та *L. monocytogenes*, були відсутні як у сировині, так і впродовж всього посолу.

Кількість життєздатних молочнокислих бактерій на початку ферментації у дослідному варіанті (з препаратом) була на два порядки вище, ніж у контрольному варіанті, і становила $6,7 \lg \text{ КУО/г}$. Для обох варіантів спостерігали повільне зростання чисельності МКБ, яка досягла максимального рівня на 72 годину в контролі - $5,83 \lg \text{ КУО/г}$ і $7,98 \lg \text{ КУО/г}$ – у досліді.

Вміст каталазопозитивних коків (*Staphylococcus sp.*, *Kockuria sp.*, *Micrococcus sp.*) у контрольному варіанті на початку досліду становив – $3,2 \lg \text{ КУО/г}$, тоді як на кінець посолу їхня кількість перевищувала початкову майже на 1,0 порядок.

Упродовж посолу простежувалось відмирання БГКП, і інтенсивніше цей процес проходив у зразку з препаратом. Так, чисельність БГКП на 72 год посолу знизилася у дослідному варіанті у 3,2 та у 1,1 рази у контролі.

Пригнічення небажаної сторонньої мікробіоти у баликах, вироблених зі застосуванням біопрепарату, відбувалось раніше порівняно з контрольними, що, в першу чергу, пояснюється конкурентною перевагою мікробіоти препарату, зокрема його антагоністичною активністю щодо сторонньої мікробіоти.

Опосередкованим індикатором розвитку бактеріального препарату в м'ясній сировині може слугувати показник рН. Експериментально було встановлено, у варіанті з бактеріальним препаратом кислотність знижувалася інтенсивніше, ніж у контрольному. У контрольному варіанті за 72 години рН знизилася з 5,74 до 5,61.

Дослідні варіанти характеризуються покращеними колірними характеристиками у порівнянні з контрольними. Так, як у дослідних варіантах спостерігалось інтенсивніше насичене червоне забарвлення, оскільки в них кольороутворення проходить активніше за рахунок нітритредуктази, продуцентом якої є наявність у складі біопрепарату *K. rosea*. При цьому сприятливі відновні умови додатково забезпечує комплексна дія лактобактерій, які активно знижують рН середовища.

За результатами досліджень встановлено, що зменшення активності води a_w у варіантах з препаратом відбувається інтенсивніше, а ніж у варіантах без нього, це відбувається за рахунок активного розвитку заквашувальної мікробіоти. Так, на 72 годину посолу для зразків значення a_w становила $0,969 \pm 0,003$ для контролю та $0,965 \pm 0,003$ для досліду.

Дослідні варіанти з препаратами КПК та Лакмік, характеризувалися вищими значеннями вологоутримувальної здатності (ВУЗ) на 48 год. експозиції, ніж варіант з ЛРР - вона знизилася до 80,31 %. На кінець експерименту ВУЗ у варіанті з ЛРР становила - 79,27 %, а у досліді з КПК - 83,14 %.

Встановлено, що пластичність досліджуваних зразків збільшувалась з часом витримки у посолі. Проте цей показник для дослідних та контрольних варіантів дещо відрізнявся, а саме, пластичність контролю змінилася з $7,78 \text{ см}^2/\text{г}$ до $15,11 \text{ см}^2/\text{г}$, водночас дослідні зразки характеризувалися збільшенням пластичності від $7,76 \text{ см}^2/\text{г}$ до $17,23 \text{ см}^2/\text{г}$. Отже, на підставі проведених

досліджень можна зробити висновок, що застосування бактеріальних препаратів прискорює біохімічні процеси у ході посолу м'ясної сировини і, тим самим забезпечує необхідні функціонально-технологічні властивості сировини.

Слід зазначити, що у свинині композиції “КПК”, “Лакмік” та “ЛРР” інтенсивніше впливали на відмирання БГКП, які зникали на 9 добу ферментування, ніж у контрольному варіанті, де присутність їх на цю добу ще спостерігалась у кількості $3,5 \cdot 10^1$ КУО/г. Найінтенсивніше це відбувалось у варіанті № 3.

У дослідних варіантах № 1, № 2 та, особливо, № 3 інтенсивний розвиток мікрококів відбувався упродовж останніх 5 діб, при цьому було зафіксовано збільшення чисельності цих мікроорганізмів у 2,58 разів, 4,47 разів та 5,62 рази, відповідно, порівняно з їх кількістю на 4 добу. На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що найкращою серед досліджених трьох заквашувальних композицій “КПК” щодо функціонування у м'ясі свинини виявилась композиція № 3.

Відомо, що нітрит натрію додають як для забарвлення, так і для пригнічення росту *Clostridium botulinum* упродовж визрівання м'ясопродуктів. Беручи до уваги потенційну небезпеку нітриту натрію та складність регулювання реакцій утворення нітрозопігментів, досліджували вміст нітриту натрію упродовж визрівання сиров'яленого балику зі свинини (рис.12).

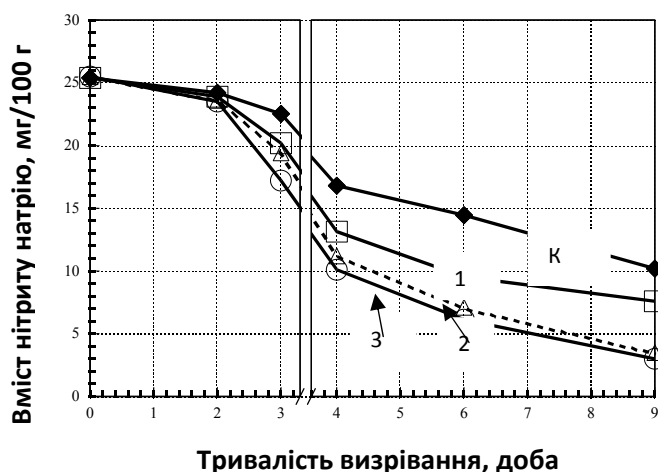


Рис. 12. Вміст нітриту натрію упродовж визрівання сиров'яленого балику (К – контрольний продукт без композиції, ферментовані продукти: 1 – з композицією “ЛРР”, 2 – з композицією “Лакмік”, 3- з композицією “КПК”).

Упродовж перших 3 діб соління у продуктах, ферментованих бактеріальними композиціями, зниження вмісту нітриту натрію було повільним – у межах 20,5 – 32,5 % та 11,3 % у контролі від початкового вмісту 25 мг/100 г сировини згідно з рецептурою балику зі свинини.

Встановлено, що в дослідних варіантах вміст нітритів активно знижувався на 9 добу визрівання – на 70 - 88 % від початкового. Найактивнішими з них були композиції № 2, № 3.

Органолептичне оцінювання готової продукції виявило певну різницю між варіантами з біопрепаратом “КПК” та без нього. Так, варіанти продуктів з біопрепаратом були м'які та щільні за консистенцією, з інтенсивнішим забарвленням, а також розрізнялися за запахом та смаком. Контрольному варіанту був притаманний присмак старого сала та невиражений аромат. Зразки

з бактеріальним препаратом мали приємний аромат та специфічний смак, характерний для сиров'яленого м'ясного продукту. За оцінкою дегустаційної комісії баликові вироби з препаратом характеризувалися кращими органолептичними властивостями.

ВИСНОВКИ

У роботі вивчено пробіотичні властивості штамів лакто- та біфідобактерій, ізольованих із біологічного матеріалу сільськогосподарських тварин, визначено перспективність їхнього промислового застосування, а також технологічні властивості лактобактерій і мікрококів, вилучених з ферментованих м'ясних продуктів. На основі активних штамів створено інноваційні біопрепарати для відгодівлі сільськогосподарських тварин та ферментування м'ясної сировини, визначено їх ефективність для отримання високоякісної м'ясної сировини та готових м'ясних продуктів. Отримані дані дозволили зробити наступні висновки.

1. Встановлено, що мікробіота сільськогосподарських тварин різниться за своїм видовим складом, а саме у поросят та телят частка лактобацил *L. plantarum* та *L. acidophilum*, склала по 21 % для кожного з цих видів; у поросят переважали біфідобактерії виду *B. longum* (13,8%), у телят - *B. infantis* (17,2 %) та у птиці - *B. pullorum* та *B. gallinarum* (12,6 %).

2. Виділення та культивування культур дозволило поповнити колекцію промислових мікроорганізмів ІПР НААН 10 новими штамми, що задовольняють вимогам до пробіотиків, а саме: *Bifidobacterium gallinarum*, *B. pullorum*, *B. suis*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* і *L. paracasei ssp. paracasei*. Штами *L. rhamnosus* 3333 і *L. paracasei* 3800, як найактивніші, захищено патентами на винахід.

3. На основі регіональних біологічно активних штамів молочнокислих та біфідобактерій, виділених із здорових тварин, розроблено багатовидові функціональні біодобавки «БК-П» (*B. infantis* 4302, *B. suis* 4500, *L. acidophilus* 3137, *L. plantarum* 3207), «БК-Т» (*B. infantis* 4302, *B. animalis* 4506, *L. acidophilus* 3137, *L. paracasei ssp. paracasei* 3801) та «БК-Пт» (*B. pullorum* 4601, *L. plantarum* 3207, *L. paracasei ssp. paracasei* 3800, *L. rhamnosus* 3333) для відгодівлі, відповідно, ВРХ, поросят та птиці. Розроблено нормативні документи на функціональні біодобавки «Пробіотики «ТІММ» для сільськогосподарських тварин».

4. Опрацьовано режими та параметри біотехнології функціональних біодобавок: склад та якість інокуляту; рецептури економічно перспективних поживних середовищ, до яких уперше залучено премікси з високою рістстимулювальною активністю «ФІЗ» та «Три-Сол»; постадійне культивування з підживленням культуральної рідини глюкозою, що дозволило продовжити фазу активного росту культури та забезпечити узгоджений ріст мікроорганізмів; встановлено склад ефективного захисного середовища та його кількість на одиницю сирової біомаси (1:2), що дозволяє зберегти 96-98 % біомаси, необхідне співвідношення між складниками бактеріальної композиції, досягти високої чисельності біологічно активних мікроорганізмів у готовому

біопрепараті – 10^{11} КУО/г та продовжити термін зберігання функціональних добавок на 6 місяців.

5. Доведено безпечність та економічну ефективність розроблених функціональних біодобавок нового покоління для молодняку сільськогосподарських тварин: ВРХ – «БК-Т», свиней – «БК-П» та птиці – «БК-Пт».

6. Експериментально визначено раціональну дозу функціональної біодобавки «БК-П» для птиці – 1 г на 1 кг корму. Така кількість біопрепарату сприяє ранньому формуванню у курчат нормальної кишкової мікробіоти, стимулює утворення еритроцитів на 9,2 %, гемоглобіну на 20,3%, синтез сироваткового білку на 7,7 % і, як наслідок, підвищує збереження птиці на 6,0 %, Біотехнологію отримання функціональної добавки «БК-Пт» захищено патентом України на винахід.

7. Встановлено, що ефективним засобом профілактики шлунково-кишкових захворювань поросят слугує функціональна біодобавка «БК-П» у кількості 0,2 г/дм³. Її застосування позитивно впливає кровотворну систему, збільшуючи число еритроцитів до 2-х місячного віку тварин на 3,4-8,1%; поліпшує білковий обмін за рахунок зростання концентрації загального протеїну на 7,7 %, що сприяє підвищенню середньодобового приросту маси тіла. Склад мікробіоценозу представлено переважно біфідо- і лактобактеріями, відповідно, (9,8-10,8) lg КУО/г і (8,4 - 8,9) lg КУО/г. Частка інших представників кишкової мікробіоти коливалась в межах (1-5) %. Живої маси 100 кг поросята дослідної групи досягли на 6 діб раніше ніж контрольної. Прибуток від реалізації сировини становить 139,83 грн на 1 голову.

8. Встановлено, що введення функціональної добавки «БК-Т» у дозі 0,5 см³ білим щурам не призводить до загибелі тварин, не впливає на масові коефіцієнти внутрішніх органів, та характеризує її як практично нетоксичну (V клас токсичності) відповідно до загальноприйнятої токсикологічної класифікації речовин. Тривале ведення функціональної добавки у терапевтичній дозі не впливає на функціональний стан внутрішніх органів.

9. Доведено, що для профілактики шлунково-кишкових захворювань новонародженим телятам доцільно додавати функціональну добавку «БК-Т» з розрахунку 100-150 см³ на одну голову після першого випоювання молозива. Встановлено, що через 12 місяців вихід туші у бичків дослідної групи був більшим на 1,34 % ніж у контрольній групі. Вміст протеїну в м'ясі бичків контрольної групи був меншим ніж у м'ясі тварин дослідної групи на 1,46 % і вміст сухої речовини на 1,91 %. Прибуток від реалізації сировини становить 589,3 грн на 1 голову.

10. Відповідно до результатів скринінгу штамів за важливими у м'ясоперербній галузі технологічними властивостями такими як солестійкість, нітритредукувальна та протеолітична активності відібрано, ідентифіковано та залучено до Колекції промислових штамів ППР 35 високопродуктивних культур: *L. rhamnosus*, *L. coryniformis* ssp. *coryniformis*, *L. sake*, *L. curvatus*, *L. casei* ssp. *tolerans*, *Propionibacterium acnes*, *M. varians*, *M. roseus*, *M.*

nishinomiyaensis, *Staphylococcus simulans*, *S. saprophyticus*, *S. carnosus*, з яких 7 задепоновано у Національному депозитарії промислових мікроорганізмів ІМВ НАНУ.

11. Складено заквашувальні композиції наступного складу: “ЛРР” *L. rhamnosus* (1У-2 + 10Р) + *Kocuria rosea* 7В (2:2:2) та “КПК” *L. casei* (6002 + 6007) + *L. plantarum* 2037 + *Kocuria rosea* М 6-3 (1:1:2:2), здатні до розвитку у м’ясній сировині. Опрацьовано раціональні режимами технологічного процесу промислового виробництва бактеріальних препаратів для ферментування м’ясної сировини: температура ($32 \pm 0,5$) °С, рН 6,2-6,5, тривалість культивування (14 ± 1) год з двостадійним внесення інокуляту і підживленням глюкозою. Все це дозволило отримати з 1 дм³ поживного середовища (7,5- 6,7) г сухого препарату з чисельністю $(7,5-8,7) \cdot 10^{10}$ КУО/г молочнокислих бактерій та $(3,6-5,0) \cdot 10^9$ КУО/г мікрокку. Біотехнологія препарату “КПК” захищена патентом України на винахід.

12. Встановлено, що додавання бактеріальних препаратів “КПК” та “ЛРР” до м’ясної сировини скорочує тривалість технологічного циклу на 3-4 доби, забезпечує високий ступінь санітарно-епідемічної безпеки готового продукту: відсутність умовно-патогенних, патогенних мікроорганізмів та низький вміст залишкових нітритів, а також гарантує набуття відмінних органолептичних характеристик. Біотехнологія препарату “КПК” захищена патентом України на винахід.

13. Технології інноваційних функціональних біодобавок для сільськогосподарських тварин та бактеріальних препаратів для ферментування м’ясної сировини є перспективними для впровадження на біотехнологічних та м’ясопереробних підприємствах України. За результатами клінічної апробації розроблено та рекомендовано до впровадження у ветеринарну практику пробіотик «ТІММ-С».

14. Експериментальні та дослідно-промислові зразки розроблених функціональних добавок є ефективними в умовах промислових господарств, що апробовано на практиці, а саме: «БК-Пт» на НВП «УКРВАК»; «БК-П» на ФГ «Вітас іК», ДП «ДГ «Степне» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, на свинокомплексі «Мар’янівський»; «БК –Т» на ФГ «Вітас іК».

Соціальний ефект від впровадження функціональних добавок полягає в опосередкованому оздоровленні людини за рахунок зменшення використання антибіотичних і хіміотерапевтичних препаратів у тваринництві і, як наслідок, обмеження впливу на організм людини шкідливих хімічних речовин, зокрема алергенів, забезпечує отримання екологічно чистої продукції.

ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Даниленко С.Г. Вплив преміксів на розвиток штамів молочнокислих та біфідобактерій / С.Г. Даниленко. //Продовольча Індустрія АПК – 2014. - № 1. – с.28-32 (Журнал включено до таких баз даних: Agris (FAO); РІНЦ).

2. **Даниленко С.** Функціональна добавка БК-П для поросят / С. Даниленко // Продовольча індустрія АПК – 2014. - № 2. – с.40-42 (Журнал включено до таких баз даних: Agris (FAO); РІНЦ).

3. Panasiuk I. Screening strains for fermentation of meet raw material / I. Panasiuk, **S. Danylenko**, G. Cherednichenko // Ukrainian Food Journal – 2014. –v. 2, № 1. – Р. – 29-34 (Журнал включено до таких баз даних: Index Copernicus; EBSCO; Google Scholar; UlrichsWeb; Global Impact Factor).

4. **Даниленко С.Г.** Використання новоствореної бактеріальної композиції у виробництві м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко, Л.П. Недорізанюк // Продовольча індустрія АПК. – 2014. – № 6. – 29-33. (Журнал включено до таких баз даних: Agris (FAO); РІНЦ). *(Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень, аналізі одержаних даних).*

5. **Даниленко С.Г.** Яловичини буде більше, якщо корми з функціональною добавкою / С.Г. Даниленко // Продовольча Індустрія АПК – 2014. – № 3. – с. 28-31 (Журнал включено до таких баз даних: Agris (FAO); РІНЦ).

6. Гарда С.О. Особливості біотехнології комплексного лактобифідопробиотику: визначення впливу раціональної дози на продуктивність курчат-бройлерів. / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Т.М. Рижкова, Г.С. Литвинов // Наукові вісті НТУУ "КПІ" 2017. – № 3. – С. 12-18. (Журнал включено до таких баз даних: DOAJ, EBSCO, Index Copernicus, WorldCat, J-Gate, Google Scholar, Chemical Abstracts Plus (CASSI), OpenAIRE, Ulrich's Periodicals Directory, BASE, Open Academic Journal Index, AcademicKeys, ResearchBib, Turkish Education Index, Eurasian Scientific Journal Index, Cosmos Impact Factor, Miar, WCOSJ, I2OR, Scholarsteer, SIS, IJIF, InfoBase Index.) *(Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень, аналіз одержаних даних).*

7. Потемська О.І. β - галактозидазна активність бактерій як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів / О.І. Потемська, Н.Ф. Кігель, С.Г. Даниленко, К.В. Копилова // Харчова наука і технологія. – 2017. – V. 11 № 3 – С. 35-41 (Журнал включено до таких баз даних: Web of Science; Ulrich's Periodicals Directory; WorldCat; Bielefeld Academic Search Engine; Directory of Open Access Journals; EBSCOhost; Журнал індексується в Index Copernicus International; Google Scholar; ResearchBib; WoS; AGRIS; CrossRef; Dimensions; Scilit; The CiteFactor; Open Academic Journals Index) *(Особистий внесок здобувача: проведення досліджень з визначення β - галактозидазної активності про біотичних штамів, аналізі одержаних даних).*

8. **Даниленко С.Г.** Дослідження якісного та кількісного складу мікрофлори розсолів / С.Г. Даниленко, Л.М. Коваленко, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // Наукові праці НУХТ. – 2013. – № 49. – с. 45-49 (Журнал включено до таких баз даних: Index Copernicus; EBSCOhost; CABI Full Text; Universal Impact Factor) *(Особистий внесок здобувача: проведено дослідження складу мікробіоти розсолів; узагальнено одержані результати).*

9. **Даниленко С.Г.** Визначення рівня контамінації *Yersinia enterocolitica*

м'ясної сировини та молока / С.Г. Даниленко, Г.В. Козловська, Ф.Ж. Ібатулліна // Індустрія АПК – 2013. - № – 6. – с. 29-31 (Журнал включено до таких баз даних: Agris (FAO); РИНЦ) *(Особистий внесок здобувача: проведено дослідження складу мікробіоти харчових продуктів узагальнено одержані результати)*.

10. **Даниленко С.Г.** Біотехнологія бактеріального препарату ЛЛР / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. – т.15. - № 3 (57), частина 4. – с. 55-62 Технічні науки Серія «Харчові технології»

11. **Даниленко С.Г.** Мікрофлора м'ясних розсолів / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Л. П. Недорізанюк. // Харчова наука і технологія. – 2013. – № 4 (25)'. – с. 43-45. *(Особистий внесок здобувача: дослідження складу мікрофлори м'ясних розсолів; узагальнення одержаних результатів)*.

12. **Даниленко С.Г.** Селекція молочнокислих бактерій з некомерційних м'ясних продуктів / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2014. - т. 16. - № 2 (59), Частина 4 – с. 43-47 Технічні науки Серія «Харчові технології»

13. **Даниленко С.Г.** Скринінг молочнокислих мікроорганізмів за нітритредуючою активністю / С.Г. Даниленко // Наукові праці НУХТ. - 2014 – т. 20. №. 5 – с. 35-40 (Журнал включено до таких баз даних: Index Copernicus ;EBSCOhost; CABI Full Text; Universal Impact Factor).

14. **Даниленко С.Г.** Дослідження впливу різних фізико-хімічних факторів на життєздатність молочнокислих бактерій / С.Г. Даниленко // Продовольчі ресурси : зб. наук.пр. / НААН України ; Ін-т прод. ресурсів НААН України. – К. : ННЦ «ІАЕ», 2014. - № 3. – С. 130-134.

15. **Даниленко С.Г.** Застосування функціональної добавки БК-Пт при вирощуванні курчат-бройлерів / С.Г. Даниленко, С.О. Гарда // Продовольчі ресурси : зб. наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2015. – № 4. – С. 117-122. *(Особистий внесок здобувача: дослідження з визначення впливу функціональної добавки на продуктивність птиці)*.

16. Сичевський М.П. Дослідження впливу функціональної добавки БК-Птиця на фізико-хімічні показники м'язової тканини курчат бройлерів / М.П. Сичевський, **С.Г. Даниленко** // Технологічний аудит та резерви виробництва. – 2016. - №4/4 (30). – С. 56-60. (Журнал включено до таких баз даних: Ulrich's Periodicals Director, DRIVER, BASE, Index Copernicus, РИНЦ, ResearchBib, DOAJ, WorldCat, EBSCO, Directory Indexing of International Research Journals, DRJI, OAJI, Sherpa/Romeo, Open Access Articles) *(Особистий внесок здобувача: проведення досліджень з визначення впливу функціональної добавки на товарні показники м'яса птиці, аналізі одержаних даних)*.

17. **Даниленко С.Г.** Визначення бактеріальної якості продуктів тваринного походження / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, К.В. Копилова, Т.А. Крижська // Продовольчі ресурси : зб. наук.пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. В. : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. – № 8. – С. 36-41

(Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень, аналізі одержаних даних).

18. Гарда С.О. Визначення стійкості до антибіотиків перспективних штамів для пробіотиків / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов. // Наукові вісті НТУУ "КПІ". – 2013. – № 3. – с.24-27 (Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень з визначення стійкості про біотичних штамів до антибіотиків, аналізі одержаних даних).

19. Гарда С.О. Дослідження мікрофлори м'яса птиці щодо відповідності ветеринарно-санітарним вимогам / С.О.Гарда, **С.Г.Даниленко**, Г.С.Литвинов // Вісник ЖНЕУ. – 2013. – № 2. – с. 121-128 (Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень та аналіз одержаних даних).

20. **Даниленко С.Г.**, Король Ц.О., Коваленко Л.М. Опрацювання складу поживного середовища для нагромадження біомаси заквашувальної композиції "ЛРР" / С.Г. Даниленко, Ц.О. Король, Л.М. Коваленко // Materiały i międzynarodowej naukow-praktycznej konferencji «nauka i inowacja-2013» 07-15 października 2013 roku– 2013 • V. 15 – p. 19-22 (Особистий внесок здобувача: проведення підбору складників поживного середовища для нагромадження біомаси, аналіз одержаних даних).

21. Крыжская Т.А. Формирование вкуса и аромата сыровяленых изделий под влиянием бактериальных препаратов / Т.А. Крыжская, Ц.А. Король, **С.Г. Даниленко**, Я.Ф. Жукова, Н.Ф. Усатенко. // Птица и птицепереработка. – 2013. - № 6 - с. 56-59. (Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень, аналіз одержаних даних.).

22. Недоризанюк Л.П. Влияние биотехнологической обработки мяса на вкусоароматические свойства цельномышечных / Л.П. Недоризанюк, **С.Г. Даниленко** // Пищевая промышленность: наука и технологии. - 2014. - № 3 (25). - С. 24-28 (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень з визначення ЛЖК., аналіз одержаних даних).

23. Гарда С.А. Скрининг бифидо- и лактофлоры сельскохозяйственной птицы / С.А. Гарда, **С.Г. Даниленко** // Птица и птицепродукты. – 2015. - № 2 - с. 50-52 (Особистий внесок здобувача: проведення мікробіологічних досліджень, аналіз одержаних даних).

24. Патент 109078 України, МПК⁷ C12N1/2, A61R35/75, A23K1/165 Штам бактерій *Lactobacillus paracasei*, що використовується у виробництві пробіотичних препаратів для сільськогосподарської птиці / **Даниленко С.Г.**, Гарда С.О., Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № а201403335; заявл. 02.04.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13. (Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо пробіотичних властивостей штаму, підготовлена патентна заявка).

25. Патент 109097 України, МПК⁶ C 12 N 1/20, A 23 C 9/12, A 22 C 11/00 Спосіб одержання бактеріального препарату "КПК" для виробництва ферментованих м'ясних продуктів / **Даниленко С. Г.**, Кігель Н. Ф., Король Ц.О.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - №

a201411266 ; заявл. 16.10.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13. (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо нарощування біомаси бактеріального препарату та підбору виробничого середовища, підготовлена патентна заявка*).

26. Патент 109098 України, МПК⁷ C12N1/2, A61R35/75, A23K1/165 Штам бактерій *Lactobacillus rhamnosus*, що використовується у виробництві функціональних добавок для сільськогосподарських тварин та птиці / **Даниленко С.Г.**, Кігель Н.Ф.; заявник та патентовласник Інститут продовольчих ресурсів НААН - № a20141127 ; заявл. 16.10.14; опубл. 10.07.15, Бюл. № 13. (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо функціональних властивостей штаму, підготовлена патентна заявка*)

27. Патент UA № 113345 МПК (2016.01) A23L 13/40 (2016.01); A23L 13/70 (2016.01) A22C 11/00 Спосіб виробництва сирокочених суцільном'язових продуктів зі свинини Недорізанюк Л.П., Лизова В.Ю., **Даниленко С.Г.** а 2015 08055 від 13.08.2015, Бюл. № 5; опубл. 10.01.2017, Бюл. №1. (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо технологічних особливостей виробництва сирокочених суцільном'язових продуктів зі свинини, підготовлена патентна заявка*).

28. Патент UA № 112353 МПК C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/225 (2006.01); C12R 1/46 (2006.01) Спосіб консервування біомаси заквашувальних культур **Даниленко С.Г.**, Кігель Н.Ф., Семенівська О.А. а 2014 12500 від 27.04.2015, Бюл. №8; від 25.08.2016, Бюл. №16 (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо підбору захисних середовищ для сушіння бактеріальних препаратів, підготовлена патентна заявка*).

29. Патент UA № 116253 МПК A23K 50/70 A23K 10/16 (2016/01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/01 (2006.01); C12R 1/225 (2006.01); C12R 1/25 (2006.01) Спосіб одержання бактеріального концентрату “БК-Птиця” для кормових продуктів **Даниленко С.Г.**, Гарда С.А. а 2016 01120 від 10.08.2016, Бюл. №15; від 26.02.2018, Бюл. №4 (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо нарощування біомаси бактеріального концентрату та підбору захисного середовища, підготовлена патентна заявка*).

30. Патент UA № 117082 МПК C12N 15/11 (2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12Q 1/68 (2018.01); G01N 33/02 (2006.01); C12R 1/23 (2006/1) Спосіб визначення культури *Lactobacillus acidophilus* за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразної ланцюгової реакції Жукова Я.Ф., Вакуленко М.М., **Даниленко С.Г.** а 2017 08391 від 15.08.2017, від 26.02.2018, Бюл. № 4; від 11.06.2018, Бюл. № 11 (*Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні дані щодо підбору праймерів та підготовка культур для ідентифікації*).

31. Патент на корисну модель № 63704 Заявка № а 2010 04109 МПК⁶ C 12 N 1/20 A 22 C 11/00 **A23L1/31, A23B4/0** C12R1:25 Штам бактерії *Lactobacillus*

plantarum, що використовується у виробництві бактеріальних препаратів та ферментованих м'ясних продуктів / Король Ц.О., Даниленко С.Г., Кігель Н.Ф. – від 25.10.11. (Особистий внесок здобувача: узагальнено літературні та власні експериментальні дані щодо функціональних властивостей штаму, підготовлена патентна заявка).

32. Король Ц.О. Селекція перспективних мікрококів та стафілококів для ферментації м'ясних продуктів / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель. // Вісник аграрної науки.-2004.-№4.-С.56-59. (Особистий внесок здобувача: проведено дослідження складу мікрофлори ферментованих м'ясних продуктів; узагальнено одержані результати).

33. Скибіцький В.Г. Виділення лактобактерій від телят та їх ідентифікація / В.Г. Скибіцький, Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, В.Г. Спиридонов, Д.Л. Мартиненко, А.П. Герілович. // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва»- 2011 т.167 ч.1. с. 102-108 (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень з ідентифікації лактобактерій).

34. Козловська Г.В. Антагоністичні та адгезивні властивості біфідобактерій, виділених від телят / Г.В. Козловська, С.Г. Даниленко, В.Г. Скибіцький. // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького Том 13 № 4(50) Частина 1 (ветеринарні науки), 2011 с. 77-81. Се (Особистий внесок здобувача: перевірка про біотичних властивостей біфідобактерій).

35. Даниленко С. Для колбас сырокопченых и сыровяленых. Заквасочные культуры в мясном производстве / С. Даниленко. // Мир продуктов. – 2012. – 6 (85). – с. 38-40.

36. Даниленко С.Г. Властивості штамів мікроорганізмів *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* та *Bifidobacterium longum subsp. suis* / С.Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – 2013. - т. 15. - № 1 (55). – Частина 1 – с. 296-301 серія «ветеринарні науки» (Особистий внесок здобувача: проведення ідентифікації та встановлення біологічних властивостей штамів).

37. Даниленко С.Г. Вплив ефірних олій на технологічно важливу мікрофлору / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, С.О. Гарда. // Вісник аграрних наук - 2014 - № 3. – С. 64-67. (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, з визначення різних концентрацій ефірних олій на виживання заквашувальної мікробіоти).

38. Даниленко С.Г. Добір мікроорганізмів для ферментації м'ясної сировини / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Бурцева // Biotechnologia Acta – 2014. – Т.7, № 4. – С. 107-117. (Особистий внесок здобувача: узагальнення літературних даних).

39. Даниленко С.Г. Зберігання культур молочнокислих мікроорганізмів / Даниленко С.Г. // Наукові праці НУХТ. - 2015 – т. 21, № 1. – с. 28-32

40. Даниленко С.Г. Визначення гострої токсичності експериментальної функціональної добавки / Даниленко С.Г. // Збірник наукових праць

Вінницького національного аграрного університету. Серія: Технічні науки. – 2015. – В. 1 (89) Том 1. – С. 100-104.

41. Скибіцький В.Г., Козлова Г.В., Ібатулліна Ф.Ж., Волосянко О.В., Мельник М.В., Столюк В.В., Постой В.В., Ушаков В.О., Акименко Л.І., В'юник О.С., Кігель Н.Ф., **Даниленко С.Г.** Методичні рекомендації з конструювання пробіотиків та застосування їх у практиці ветеринарної медицини. – Національний університет біоресурсів і природокористування України. Український ННІ якості біоресурсів та безпеки життя. – Київ, 2011, 38 с. (*Особистий внесок здобувача: узагальнення літературних даних та результатів власних досліджень з характеристики пробіотичних мікроорганізмів*).

42. Гарда С.О. Дослідження мікрофлори м'яса / С.О. Гарда, Н.Ф. Кігель, **С.Г. Даниленко**. // Матеріали V регіональної науково-практичної конференції викладачів, науковців, аспірантів, молодих вчених та студентів «Біотехнологія ХХІ століття» (26 квітня 2011, м. Київ). - К.: НТУУ «КПІ». – С. 48. (*Особистий внесок здобувача: проведено дослідження складу мікробіоти м'яса, узагальнено одержані результати*).

43. **Даниленко С.** Визначення антибіотикостійкості промислових культур / С. Даниленко, Г. Бурцева, С. Гарда. // Тези доповідей міжнародної науково-практичної інтернет – конференції «Механізми реалізації стратегії розвитку національної економіки» (20-21 жовтня 2011 р. м. Тернопіль) С.46-49 (*Особистий внесок здобувача: дослідження антибіотикостійкості селекціонованих штамів, аналіз одержаних даних*).

44. **Даниленко С.Г.** Поиск и подбор штаммов микроорганизмов, перспективных для посола мясных продуктов. / С.Г. Даниленко, И.В. Панасюк, Л.Н. Коваленко // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник материалов конференции студентов, аспирантов и молодых ученых / под общ. ред. А.Ю. Просекова; ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности» (22 апреля 2013 г., г. Кемерово). – Кемерово, 2013. – с. 150-154. (*Особистий внесок здобувача: дослідження мікробіоти розсолів, аналіз одержаних даних*).

45. **Даниленко С.Г.** Каталазна активність селекціонованих стафілококів та мікрококів / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, Л.М. Коваленко // Тези доповідей VII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 115 річниці заснування НТУУ «КПІ» Біотехнологія ХХІ століття (24 квітня 2013р., м. Київ). – К.: НТУУ «КПІ», 2013. – с. 29-30. (*Особистий внесок здобувача: визначення каталазної активності селекціонованих штамів, аналіз одержаних даних*).

46. Гарда С.О. Пробіотичні властивості мікроорганізмів / С.О. Гарда, **С.Г. Даниленко**, І.В. Панасюк. // Матеріали IX Міжнародної науково-практичної конференції «Наука в інформаційному просторі» (10–11 жовтня 2013 р.) – Д.: Біла К.О. – С. 28-31 (*Особистий внесок здобувача: організація проведення дослідження, аналіз одержаних даних*).

47. Гарда С.О. Дослідження активності кислотоутворення штамів / С.О. Гарда, Л.М. Коваленко, **С.Г. Даниленко**, Г.С. Литвинов // Збірник тез III

Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (15-16 травня 2014, м. Київ). – Київ: ВЦ НУБіП України. – С. 17-18. (*Особистий внесок здобувача: дослідження технологічних властивостей селекціонованих штамів, аналіз одержаних даних*).

48. **Даниленко С.Г.** Исследование закономерностей функционирования бактериального препарата в мясном сырье / С.Г. Даниленко // 36. наук. праць за матеріалами II Міжнар. наук.-практ. конф. «Продовольчі ресурси : проблеми і перспективи» Секція 1 «Сучасні ресурсозберігаючі технології в харчовій промисловості. Безпечність та якість харчових продуктів» (11 листопада 2014, м. Київ). – К.: ННЦ«ІАЕ». – 2014. – С. 206-209.

49. **Даниленко С.Г.** Адгезивна властивість біфідобактерій / С.Г. Даниленко, О.І. Потемська, С.О. Гарда // Тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття», присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечнікова (24 квітня 2015 р., м. Київ). К.: НТУУ «КПІ», 2015 – С. 35(*Особистий внесок здобувача: дослідження адгезивної активності селекціонованих штамів, аналіз одержаних даних*).

50. **Даниленко С.Г.** М'ясо та м'ясні продукти. Організація та методи мікробіологічних досліджень (ДСТУ 8381:2015) / С.Г. Даниленко, Н.Ф. Кігель, Г.В. Козловська, І.В. Панасюк. – [Чинний від 2017 – 01 – 07]. – К.: Держспоживстандарт України, 2015. – 48 с. (*Прийняла участь в дослідженнях, складанні тексту стандарту та в процедурах його затвердження*).

51. Романчук І.О. Вироби ковбасні та продукти з м'яса. Методи визначення мікробного забруднення (ДСТУ 8720:2017). / І.О. Романчук, **С.Г.Даниленко**, Н.Ф. Кігель. – [Чинний від 2019 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2017. – __ с. (*Прийняла участь в дослідженнях, складанні тексту стандарту та в процедурах його затвердження*).

52. Єресько Г.О. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного аналізування (ДСТУ 7357:2013) / Г.О. Єресько, **С.Г. Даниленко**, Н.Ф.Кігель. – [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 38 с. (*Прийняла участь в дослідженнях, складанні тексту стандарту та в процедурах його затвердження*).

53. Єресько Г.О. Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначання кількості біфідобактерій. (ДСТУ 7355:2013) / Г.О.Єресько, **С.Г. Даниленко**, Ц.О. Король, Н.Ф. Кігель, Г.Г. Борщ. [Чинний від 2014 – 01 – 01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2014. – 18 с. (*Прийняла участь в дослідженнях, складанні тексту стандарту та в процедурах його затвердження*).

АНОТАЦІЯ

Даниленко С. Г. Наукове обґрунтування розробки біотехнологій інноваційних препаратів для підвищення споживчих якостей м'ясних продуктів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, 2018.

У дисертаційній роботі представлені результати наукового обґрунтування біотехнології інноваційних препаратів для поліпшення споживчих якостей м'ясних продуктів. Обґрунтовано критерії та методи селекції мікроорганізмів різних таксономічних груп. Опрацьовано режими та параметри біотехнології препаратів: склад та якість інокуляту; рецептури економічно перспективних поживних середовищ, культивування з підживленням культуральної рідини глюкозою, встановлено склад ефективного захисного середовища та його кількість на одиницю сирової біомаси, що дозволяє досягти високої чисельності біологічно активних мікроорганізмів у готовому біопрепараті – 10^{10-11} КУО/г та подовжити термін зберігання на 6 місяців. Перевірено безпечність функціональних добавок.

Встановлено раціональні дози внесення для кожного виду тварин та м'ясних продуктів.

Доведено, що функціональні добавки є ефективними засобами профілактики шлунково-кишкових захворювань сільськогосподарських тварин та птиці.

Внесення бактеріальних препаратів у м'ясну сировину забезпечує зростання чисельності корисної мікробіоти, скорочує тривалість технологічного циклу на 3-4 доби, забезпечує високий ступінь санітарно-епідемічної безпеки готового продукту.

Ключові слова: пробіотик, мікрококи, стафілококи, бактеріальний препарат, ферментовані м'ясні продукти, функціональні добавки, пробіотичні властивості, біфідобактерії, молочнокислі бактерії, критерії відбору.

АННОТАЦІЯ

Даниленко С. Г. Научное обоснование разработки биотехнологий инновационных препаратов для повышения потребительских качеств мясных продуктов. - Квалификационная научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 03.00.20 - биотехнология. - Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского» МОН Украины, 2018. Диссертация выполнена в институте продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук Украины.

В диссертационной работе представлены результаты научного обоснования биотехнологии инновационных препаратов для улучшения потребительских качеств мясных продуктов.

Изучены пробиотические свойства штаммов лакто- и бифидобактерий, выделенных из биологического материала животных (телят, поросят и птицы) определено перспективность их промышленного применения. На основе

нововыделенных штаммов разработаны полифункциональные добавки «БК-П», «БК-Т» и «БК-Пт».

Обработано режимы и параметры биотехнологии функциональных биодобавок, состав и качество инокулята; рецептуры экономически перспективных питательных сред, для которых впервые привлечены премиксы с высокой ростстимулирующей активностью «Физ» и «Три-Сол»; культивирование с подпиткой культуральной жидкости глюкозой, установлен состав эффективной защитной среды и ее количество на единицу сырой биомассы, что дает возможность достичь высокой численности биологически активных микроорганизмов в готовом биопрепарате- 10^{11} КОЕ/г и продлить срок хранения функциональных добавок на 6 месяцев.

Установлено рациональную дозу функциональной добавки для каждого вида животных, доказано, что функциональные добавки это эффективные средствами профилактики желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных и птицы.

Улучшение потребительских свойств мясного сырья достигается за счет повышенного содержания протеина и содержания сухих веществ.

Исследовано микрофлору отечественных мясных сыровяленых и сырокопченых продуктов, произведенных по традиционной технологии, и выявлено, что каждый продукт характеризовался собственным соотношением между отдельными группами микроорганизмов.

Обоснованы критерии и методы селекции микробиоты из отечественных сырокопченых и сыровяленых некоммерческих изделий из различных видов мяса, идентифицировано 35 штаммов рода *Lactobacillus*, *Micrococcus* и *Staphylococcus* для ферментации мясного сырья. Созданы бактериальные препараты "ЛРД" и "КПК", способны развиваться в мясном сырье. Отработаны рациональные режимы технологического процесса промышленного производства бактериальных препаратов: температура $(32 \pm 0,5)^\circ \text{C}$, pH 6,2-6,5, продолжительность культивирования (14 ± 1) ч с Двухстадийное внесение инокулята и подпитка глюкозой. Все это позволило получить с 1 дм^3 питательной среды (7,5- 6,7) г сухого препарата с численностью $(7,5-8,7) \times 10^{10}$ КОЕ/г молочнокислых бактерий и $(3,6-5,0) \times 10^9$ КОЕ/г микрококков.

Эффективность применения препаратов было проверено при производстве сыровяленых продуктов из свинины согласно рецептуре на балык «Дарницкий». Внесение бактериальных препаратов в мясное сырье приводило к росту численности лактобактерий и микрококков, интенсивному снижению численности бактерий группы кишечных палочек, сокращает продолжительность технологического цикла на 3-4 суток, обеспечивает высокую степень санитарно-эпидемической безопасности готового продукта: отсутствие условно-патогенных, патогенных микроорганизмов и низкое содержание остаточных нитритов, гарантирует получения отличных органолептических характеристик.

Инновационные биотехнологии функциональных добавок для сельскохозяйственных животных и бактериальных препаратов для ферментации мясного сырья внедрены в производство.

Ключевые слова: пробиотик, микрококки, стафилококки, бактериальный препарат, ферментированные мясные продукты, функциональные добавки, пробиотические свойства, бифидобактерии, молочнокислые бактерии, критерии отбора.

SUMMARY

Danylenko S.G. Scientific substantiation of development of biotechnologies of innovative preparations for improving consumer qualities of meat products. - Manuscript.

Thesis for a Doctor of Technical Sciences degree in specialty 03.00.20 - Biotechnology. - National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute named after Igor Sikorsky", Ministry of Education and Science of Ukraine, 2018.

The dissertation presents the results of scientific substantiation of biotechnology of innovative preparations for improving consumer qualities of meat products. The criteria and methods of selection of microorganisms of different taxonomic groups are substantiated. Modes and parameters of biotechnology of preparations are studied: composition and quality of inoculum; formulation of economically promising nutrient media, cultivation with culture fluid supplements with glucose, determination of the composition of effective protective medium and its amount per unit of raw biomass, achievement of a high number of biologically active microorganisms in the finished biologic preparation - 10^{10-11} CFU / g and extension the shelf life by 6 months. Innovative preparations safety is checked.

Rational dosages for each species of animals and meat products have been established.

Functional supplements have been proven to be effective in preventing gastrointestinal diseases of farm animals and poultry.

The introduction of bacterial preparations in meat raw material leads to an increase in the number of useful microbiota, reduces the duration of the technological cycle for 3-4 days, provides a high degree of sanitary and epidemiological safety of the finished product.

Key words: probiotic, micrococci, staphylococci, bacterial preparation, fermented meat products, functional additives, probiotic properties, bifidobacteria, lactic acid bacteria, selection criteria.